

## 岡山大学医学部・歯学部附属病院の 遺伝子治療臨床研究実施計画について

- 遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について . . . . . P1  
(がん遺伝子治療臨床研究作業委員会)
  - がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 . . . . . P7
  - 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書 (改訂後) . . . . . P8
  - 遺伝子治療臨床研究実施計画 (改訂後) . . . . . P25
  - 前立腺がん遺伝子治療臨床研究のための  
説明と同意書 (改訂後) . . . . . P110
- 添付資料 12-1 内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌 (非転移症例)
  - 添付資料 12-2 内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌 (有転移症例)
  - 添付資料 12-3 内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌 (前立腺全摘症例)
  - 添付資料 12-4 継続投与に関する説明と同意書

平成 19 年 11 月 22 日

岡山大学医学部・歯学部附属病院から申請のあった  
遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

がん遺伝子治療臨床研究  
作業委員会

委員長 笹月 健彦

岡山大学医学部・歯学部附属病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりと  
りまとめたので報告いたします。

記

1. 前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用  
いた遺伝子治療臨床研究  
申請者：岡山大学医学部・歯学部附属病院 病院長 森田 潔  
申請日：平成 18 年 7 月 18 日

## 1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

- (1) 研究課題名： 前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究
- (2) 申請年月日： 平成 18 年 7 月 18 日
- (3) 実施施設： 岡山大学医学部・歯学部附属病院  
代表者： 病院長 森田 潔
- (4) 総括責任者： 岡山大学大学院 医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学分野  
教授 公文 裕巳
- (5) 対象疾患： 内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん  
導入遺伝子： ヒトインターロイキン 12 (IL-12) 遺伝子  
ベクターの種類： 非増殖性ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad-5) ベクター  
用法・用量： 28 日毎に計 3 回 (追加投与が認められた場合は 3 回以上)、①非転移症例及び②-1 有転移症例で前立腺全摘出手術未施行例では前立腺腫瘍内に、②-2 有転移症例で前立腺全摘出手術施行例では局所ないし遠隔転移病巣内に穿刺により注入。投与量は各回  $1 \times 10^{10}$  viral particles (vp)、 $5 \times 10^{10}$  vp、 $1 \times 10^{11}$  vp、 $5 \times 10^{11}$  vp、 $1 \times 10^{12}$  vp、 $5 \times 10^{12}$  vp の 6 段階の用量レベルで増量。  
研究実施期間： 厚生労働大臣より了承された日から最終症例の治療終了後 5 年間  
目標症例数： 標準 21 例、最大 36 例 (各用量群 3~6 例)

### (6) 研究の概略：

本研究は、内分泌療法抵抗性再燃前立腺がんに対して、非増殖性の IL-12 遺伝子発現 Ad-5 ベクターを前立腺局所又は遠隔転移巣の病変部内に注入した場合の安全性を検討することを主要な目的とする。また、免疫学的反応の解析及び治療効果の観察を副次的な目的とする (第 I / II 相臨床研究)。

### (7) その他 (外国での状況等)：

前立腺がんに対する遺伝子治療臨床研究は、国内では単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子発現非増殖性 Ad-5 ベクターを用いて内分泌療法抵抗性再燃前立腺がんを対象に岡山大学医学部・歯学部附属病院及び神戸大学医学部附属病院で実施され、終了している。また、限局性前立腺がんを対象に北里大学病院で実施中である。

非増殖性の IL-12 遺伝子発現 Ad-5 ベクターを用いた遺伝子治療は国内では本臨床研究が初めてであるが、本臨床研究と同一のベクターを用いて、放射線療法・内分泌療法・凍結療法に抵抗性を示す前立腺がんを対象に米国ペイラー医科大学で 4 例実施されている (但し、ベクターの投与は単回のみで、前立腺全摘出手術施行後の再発症例は含まな

い)。上記の遺伝子治療は安全性の評価を主要な目的としており、重篤な副作用はこれまで報告されていない。

## 2. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要

### 1) 第1回審議

① 開催日時： 平成18年9月13日(水) 13:00～15:00

② 議事概要：

平成18年7月18日付けで岡山大学医学部・歯学部附属病院により申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん）について第1回目の審議を行った。

まず、研究実施計画について同病院の総括責任者らから説明を受けた後、説明及び提出資料を基に、委員間で実施計画の妥当性等についての審議を行った。

各委員の意見については、事務局で整理の上、本作業委員会の意見として申請者に検討を依頼することとし、その結果を基に再度審議することとした。

(本作業委員会の意見)

1) 本臨床研究での副次的評価項目の1つに挙げられているヒトインターロイキン12 (IL-12) 遺伝子発現ヒトアデノウイルス5型ベクター投与による免疫学的反応の検討に関して

① 遺伝子治療によって誘導される腫瘍免疫について現時点で得られている知見を、バイラー医科大学系列以外の研究施設からの知見も含めて説明すること。特に、IL-12 遺伝子発現ベクターを用いた遺伝子治療において、ヒトでのIL-12 及びインターフェロン $\gamma$ の血中濃度推移や発現したIL-12の分布については、詳しく説明すること。

② 免疫学的反応の検討に係る試験項目並びに各試験の実施時期及び試験方法について、当該試験を実施する必要性を踏まえながら、試験方法の感度・再現性等も含めて、それぞれの内容及び妥当性を詳細かつ具体的に説明すること。

③ リンパ球の動的解析や調節性T細胞についての解析を追加する等、本臨床研究で実施する免疫学的反応の検討内容を、病変組織・末梢血の双方においてさらに充実するよう検討すること。なお、追加した試験項目については、上記②と同様に各試験の実施時期及び試験方法を詳細に説明すること。

2) 被験者に対する同意説明文書に関して、IL-12 遺伝子発現ベクターを用いた

遺伝子治療における IL-12 及びインターフェロン $\gamma$  の血中濃度推移等を踏まえて、本臨床研究において投与局所から離れた部位にも IL-12 遺伝子発現ヒトアデノウイルス 5 型ベクターが有効性を発揮することが予想されるところの根拠を、腫瘍組織にベクターを直接投与することとした理由及び想定される作用機序と共に、同意説明文書に平易な表現で追記すること。

3) 本臨床研究において許容されている追加投与に関して、追加投与を可とする条件の 1 つとして「悪化傾向を認めず (PD : Progressive Disease でなく)」が挙げられているが、これを「PR : Partial Response 以上」としなかった理由を説明すること。

## 2) 第 2 回審議

① 開催日時： 平成 19 年 9 月 19 日 (水) 13:00~14:45

② 議事概要：

前回の審議における本作業委員会の意見に対し、岡山大学医学部・歯学部附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第 2 回目の審議を行った。

まず、回答書及び追加資料について同病院の総括責任者らより説明を受けた後、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行った。

その結果、本実施計画を概ね了承することとしたが、検査スケジュールの見直しや同意説明文書の記載整備等、各委員より指摘のあった点については、申請者と事務局との間で整備の上、委員長が確認した後に、次回以降の科学技術部会に報告することとした。

(なお、これら実施計画書等の整備については、平成 19 年 11 月 22 日に委員長了承。)

(各委員からの主な指摘の内容)

- 1) 治療効果判定に関する検査スケジュールに関して、血液中リンパ球サブセット及び血清サイトカインの検査を投与後 7 日目まで毎日実施するとされているが、患者の採血の負担等を考慮し、安全性の評価に合わせて 2 日毎の検査としても評価は可能と思われるので、当該検査のスケジュールについて再検討すること。
- 2) 血清 CTL 誘導ペプチドに対する特異的 IgG 抗体の測定に関して、実際に使用する具体的なペプチドの種類 (名称) 及びその選択理由 (測定目的) をペプチドの分類毎に表にまとめて提示すること。
- 3) 同意説明文書中に 1 回あたりのおよその採血量を追記すること。
- 4) 同意説明文書に「臨床研究に参加することを同意した場合でも、あなたが健康に不安を感じたり、あなたにとって何らかの不都合が生じた場合は、いつでも研究

参加の同意を撤回することができること。」とあるが、下線を削除し、いつでも同意を撤回できるという趣旨がより明確な記載に修正すること。

- 5) 同意説明文書中、遺伝子治療以外の方法として挙げられている放射線治療及び抗癌剤治療についてより正確に記載すること。

### 3. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書の主な変更内容

(実施計画)

- ・ 研究体制に関して、下記のとおり新たな免疫学的解析方法が導入されたことに伴い、専門家として久留米大学の研究者が新たに追加された。
- ・ 有効性評価における遺伝子治療に伴う免疫学的反応の検討に関して、本作業委員会の意見を踏まえ、患者の負担も配慮しながら、検査項目及び各検査の実施時期がより充実したものに改められた。また、新たな検査項目として、導入遺伝子の解析のための組織検査及び新たな免疫学的解析方法（CTL 誘導ペプチドに対する特異的 IgG 抗体の測定）が追加された。
- ・ 安全性及び有効性の評価に関して、本作業委員会の意見を踏まえて、治療終了後 5 年間の長期フォローアップが追加された。これに伴い、申請時には承認日から 3 年間としていた研究実施期間が、承認日から最終症例の治療終了後 5 年間に改められた。

(患者への同意説明文書)

- ・ 同意の撤回に関して、本作業委員会の意見を踏まえて、いつでも同意を撤回できるという趣旨がより明確な記載に改められた。
- ・ 遺伝子治療以外の治療法について、本作業委員会の意見を踏まえて、放射線治療及び抗癌剤治療の現状をより正確に説明する記載に改められた。
- ・ 遺伝子治療臨床研究の概要に関して、本作業委員会の意見を踏まえて、IL-12 遺伝子発現 Ad-5 ベクターの作用機序と、腫瘍組織内に直接投与する理由が明記された。
- ・ 安全性及び有効性の評価の充実に伴い、安全性及び治療効果判定に関する検査のスケジュール表が改められ、表中に採血量も記載された。また、導入遺伝子の解析のための生検の説明が追加され、退院後の検査項目、検査時期が明記された。

#### 4. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果

岡山大学医学部・歯学部附属病院からの遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん）に関して、がん遺伝子治療臨床研究作業委員会は、主として科学的観点から以上のとおり論点整理を進めて、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。その上で、本作業委員会は本実施計画の内容が科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

# 厚生科学審議会科学技術部会 がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿

氏 名	所 属
あさの 浅野 <small>しげたか 茂隆</small>	早稲田大学理工学術院特任教授
あらと 荒戸 <small>てるよ 照世</small>	独立行政法人医薬品医療機器総合機構生物系審査部審査役
うえだ 上田 <small>りゅうぞう 龍三</small>	名古屋市立大学大学院医学系研究科教授
おざわ 小澤 <small>けいや 敬也</small>	自治医科大学医学部教授
かきぞえ 垣添 <small>ただお 忠生</small>	国立がんセンター一名誉総長
かねこ 金子 <small>しゅういち 周一</small>	金沢大学医学部長
かねだ 金田 <small>やすふみ 安史</small>	大阪大学大学院医学系研究科教授
○ さきづき 笹月 <small>たけひこ 健彦</small>	国立国際医療センター総長
しまだ 島田 <small>たかし 隆</small>	日本医科大学医学部教授
はまだ 濱田 <small>ひろふみ 洋文</small>	札幌医科大学教授（教育研究機器センター）
はやかわ 早川 <small>たかお 堯夫</small>	独立行政法人医薬品医療機器総合機構顧問
よしくら 吉倉 <small>ひろし 廣</small>	厚生労働省医薬食品局食品安全部企画情報課参与

**（前立腺がん・腎がん）**

<兼任> かきぞえ 垣添 ただお 忠生 国立がんセンター一名誉総長

○委員長 （五十音順 敬称略）

（平成19年4月12日現在）

別紙様式第 1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 18 年 7 月 18 日

厚生労働大臣 殿

実 施 施 設	所 在 地	岡山県岡山市鹿田町 2 丁目 5 番 1 号 (郵便番号 700-8558)
	名 称	岡山大学医学部・歯学部附属病院 (電話番号 086-223-7151) (Fax 番号 086-235-7636)
	代 表 者 役職名・氏名	岡山大学医学部・歯学部附属病院長 森田 潔



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添のとおり実施計画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
前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子 発現アデノウイルスベクターを用いた 遺伝子治療臨床研究	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻 (泌尿器病態学分野)・教授・公文裕巳

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 18 年 7 月 18 日

研究の名称	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成 年 月 日 (承認日) から最終症例の治療終了後 5 年間

総括責任者	所属部局の所在地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (泌尿器病態学分野)・教授	
	氏 名	公文裕巳 	
実施施設	所在地	岡山市鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	名称	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (泌尿器病態学分野) 及び岡山大学医学部・歯学部附属病院	
	連絡先	岡山市鹿田町 2-5-1 (電話番号 086-235-7287) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 (泌尿器病態学分野)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	那 須 保 友	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻 (泌尿器病態学分野)・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、臨床効果判定
	雑 賀 隆 史	岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	賀 来 春 紀	岡山大学医学部・歯学部附属病院、遺伝子・細胞治療センター・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	江 原 伸	岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・助教	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	小 林 知 子	岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・医員	患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析

谷本 竜太	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻（泌尿器病態学分野）・大学院生	患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析
清水 憲二	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻（分子遺伝学分野） ・教授	組織内における Interleukin-12 遺伝子の同定
山田 雅夫	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科 社会環境生命科学専攻（病原ウイルス 学分野）・教授	ウイルスベクター力価の測定
中山 睿一	岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科 病態制御科学専攻（免疫学分野）・教授	免疫学的解析
七條 茂樹	久留米大学医学部免疫学講座・准教授	C T L 誘導ペプチドに対する特異的 IgG 抗体の測定
Timothy C. Thompson	ベイラー医科大学・泌尿器科・教授	遺伝子治療臨床研究における全般的指導
Brian J. Miles	ベイラー医科大学・泌尿器科・教授	遺伝子治療研究における基礎的・臨床的解析の指導
Malcolm K. Brenner	ベイラー医科大学・小児科・教授・遺 伝子・細胞治療センター所長	ウイルスベクターの作製、安全性のチェック、品質管理
枝村 康平	ベイラー医科大学・泌尿器科・研究員	ウイルスベクターに関する情報の提供
審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	別紙のとおり（末尾に添付）	
	審査委員会の長の職名	氏 名
	岡山大学医学部・歯学部附属病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長	伊達 勲 (印)

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子治療標識研究
研究の目的	<p>本研究は、内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対し Interleukin-12 (以下：IL-12) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合の</p> <p>a) 安全性の検討 (最大耐量の推定) を確認することを本試験の主な目的とする (主要エンドポイント)。また腫瘍免疫を中心とした</p> <p>b) 免疫学的反応の検討 (局所および全身反応の解析) ならびに</p> <p>c) 治療効果の観察 (評価可能症例) を行い、治療効果判定を総合的に解析する (副次エンドポイント)。</p> <p>遠隔転移の有無にかかわらず、内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例に対して、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で前立腺腫瘍内もしくは局所ないし遠隔転移 (軟部組織を含む) 病巣内に直接投与する。その際の質的、量的安全性を確認し、腫瘍免疫を中心とした生体における免疫学的反応の検討を行うとともに治療効果の判定を行い、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる分子生物学的効果、免疫学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの IL-12 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II 相試験である。</p> <p>本臨床研究は米国ペイラー医科大学の遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、同医科大学の Timothy C. Thompson 博士等の研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。本臨床研究に用いられる IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターは同じく研究協力者である Malcolm Brenner 博士が所長を務める同医科大学遺伝子・細胞治療センターで作製され、直接供給される。</p>	
対象患者及びその選定理由	<p>1. 対象疾患</p> <p>本研究では病理組織学的に前立腺癌と診断され、内分泌療法で治療された患者のうち、経過中に腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA: Prostate Specific Antigen) を用いた生化学診断上、内分泌療法が無効と診断された症例を対象とし、以下の3カテゴリーに分類する。</p> <p>①. 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌：(非転移症例)</p> <p>外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者。</p> <p>②. 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌：(有転移症例)</p> <p>前立腺全摘出術の有無により、2カテゴリーに分類する。</p> <p>②-1：前立腺全摘出手術未施行例</p> <p>前立腺癌診断時、既に臨床的に遠隔転移を有し、外科的切除により根治不能な進行前立腺癌症例で内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断された患者。</p> <p>②-2：前立腺全摘出手術施行例</p> <p>根治的前立腺全摘術後に局所ないし遠隔転移 (軟部組織を含む) にて再発した前立腺癌症例で、内分泌療法 (放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む) の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断され、かつ再燃時に組織学的に転移が確認された患者。</p> <p>2. 対象疾患の選定理由</p> <p>内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌に対する放射線治療の有効性は、排尿障害などの症状の緩和に対しては約 90%と良好な成績が報告されているものの、2年以内に約 75%の症例において PSA の再上昇を認め、予後の改善に関しては満足すべき成績は得られていない。しかも放射線治療については、種々の合併症が認められ、頻度は 3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症 (消化管穿孔、潰瘍) の発生も報告されており、Quality of Life (QOL) の観点から問題があるといえる。また内分泌抵抗性転移性前立腺癌に対する放射線治療の有効性は骨転移やリンパ節転移に伴う疼痛緩和</p>	

	<p>には有効性が示されるものの、放射線照射部以外の病巣に対する効果は期待できないことが問題となる。</p> <p>内分泌療法治療中に再燃してきた内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対しては一般に抗癌化学療法が選択されるが、抗癌化学療法として本邦では保険適応のある化学療法剤であるエストラサイト、イフォマイド、シスプラチン、ペプロマイシンおよびUFT が挙げられる。一過性のPSA減少、および症状の改善は期待できるものの、生存率の延長効果は認められていない。また対象症例の多くが高齢者であり患者の認容性に問題がある。対象となる患者として高齢者が多い現実を考えると、より low risk and high benefit な治療法の開発が望まれている。</p> <p>古くから免疫系を介した腫瘍特異的免疫療法は注目されてきたが、免疫抑制がかかった担癌状態のなかで腫瘍の退縮を導くメカニズムが今日の実験系で次第に明らかになってきた。なかでも、腫瘍特異的免疫活性を賦活化させるサイトカインの1つとして Interleukin-12(IL-12)が注目されている。しかし種々の癌を対象とした臨床試験において IL-12 タンパクの静脈内投与後、重篤な副作用が発生し死亡例が発生した。この臨床試験における IL-12 タンパク投与は、(用量設定試験においては実施された) 2週間前に実施するテスト投与を省略し、500ng/kg の IL-12 タンパクを静脈内に連日5日間投与し、3週ごとに2回投与するスケジュールであった。重篤な副作用の原因が、テスト投与省略による血清中インターフェロン<math>\gamma</math>濃度の著明上昇と相関していると判明した。引き続き IL-12 タンパクの皮下投与に投与方法を変更し、悪性腫瘍、C型肝炎を対象に臨床試験が実施され、静脈内投与よりも低い投与量と長い投与間隔においての安全性と有効性が確認された(皮膚T細胞性リンパ腫10例を対象に50~300 ng/kg を週2回24週皮下投与するスケジュールで実施された。副作用は軽度の発熱、頭痛であり限られた症例においてのみ認められた。評価可能症例9例中5例において完全もしくは部分寛解が認められた。)。また、より確実に安全性の確保と高い臨床効果を目指し、IL-12 遺伝子治療の研究が開始され、前立腺癌を含む様々な癌種において IL-12 遺伝子 <i>in vitro</i> および <i>in vivo</i> 実験が行われ、遺伝子治療の安全性と有用性が動物実験において確認された。</p> <p>研究担当医師である那須保友は、マウス前立腺癌同所移植モデルを用いた前臨床試験において、マウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与により、1) 局所前立腺腫瘍の発育抑制、2) 肺転移および骨転移の抑制という全身効果、3) 生存期間の延長効果、を確認し、転移病巣の治療を目的とした IL-12 遺伝子の局所投与の有用性を明らかにした。すなわち局所への遺伝子導入 (<i>in situ</i> gene therapy) による免疫の賦活化などを介した全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠を明らかにした。</p> <p>上記のような成績から、本研究の対象患者として、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌患者ならびに内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌患者を選定し、アデノウイルスベクターにより IL-12 遺伝子を直接癌細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>1. ヒトに導入する IL-12 遺伝子の構造、性質、活性 (遺伝子の構造)</p> <p>導入を企図する遺伝子は、インターロイキン 12 (Interleukin-12: IL-12) たんぱく質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。サイトメガロウイルス・プロモーター(CMV)配列、IL-12 遺伝子、シミアンウイルス 40 (SV40)・ポリ A シグナルからなる IL-12 遺伝子発現カセットを、E1 領域を欠き複製能力を持たないヒトアデノウイルス 5 型ベクターに組み込み、組換えアデノウイルスベクターを作製した。このアデノウイルスベクターを、E1 遺伝子導入ヒト胎児腎細胞 293 への感染により増殖させ、塩化セシウム (CsCl) を用いた超遠心にて精製したロットを臨床研究に用いる。IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍組織内に直接注射することにより IL-12 遺伝子を導入する。アデノウイルスベクターは高力価の濃縮ベクター液を調製することが可能であり、またアデノウイルスベクターの高い遺伝子導入効率は腫瘍内直接投与に適していると思われる。</p> <p>(IL-12 遺伝子の生物活性)</p> <p>IL-12 は分子量約 70kDa (p70) の糖蛋白質で、1 個の分子内ジスルフィド結合により結ばれた分子量各 40kDa (p40) と 35kDa (p35) の互いに相同性のない 2 つのサブ</p>

ユニットより構成された異型二量体である。

IL-12はNatural killer (NK)、Cytotoxic T lymphocyte (CTL)活性の誘導ならびに増強、さらにはT細胞およびNK細胞の分化刺激によるNK、T細胞からのInterferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ )の産生誘導により抗腫瘍効果を発揮することが広く知られている。一連の研究において、様々な癌種に対しIL-12の用量依存的な殺細胞効果や転移抑制効果、持続的免疫反応が示されている。

## 2. 遺伝子導入方法の概略

### (ベクターの生産)

本臨床研究に用いられるIL-12ウイルスベクターは、現行のFDAガイダンス、GMP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原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとにベイラー医科大学遺伝子ベクター室において生産されており、ベイラー医科大学より供与を受ける。

### (遺伝子導入方法)

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第1回目）を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール（患者登録）し治療前検査を開始する。治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に院内の遺伝子治療臨床研究審査委員会の下に設置された安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。安全・効果評価・適応判定部会で本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第2回目）を行う。同意が得られた場合に限り、以下の方法によって本臨床研究を実施する。

#### ①内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌（非転移症例）

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1mlとする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

#### ②内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌（有転移症例）

##### ②-1. 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1mlとする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

##### ②-2. 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用いて病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1-2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1mlとする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて局所麻酔を施行し、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入する。CTガイド下で注入する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部CT室にて局所麻酔を施行し、CTガイド下にベクターを注入する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

注入後の岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室ならびに岡山

大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部 CT 室内の消毒、清掃は専門業者に依頼する。  
ベクター液はベクター力価漸増式に6段階設定し、各ステージの安全性を注入後少なくとも28日目までのデータを基に「遺伝子治療臨床研究審査委員会」にて安全であると判定された後、次のステージを開始する。

これまでの研究成果

① IL-12 遺伝子治療に関して

前立腺癌について：前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の研究は、研究分担者である那須保友、雑賀隆史、江原 伸ならびに研究協力者である Timothy C. Thompson (ベイラー医科大学・泌尿器科・教授)らにより精力的に行われてきた。ヒトおよびマウス前立腺癌培養細胞(内分泌療法感受性細胞およ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、転移抑制効果などの有効性が確認された。また治療実験およ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。これらの基礎研究結果を踏まえ、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床プロトコルは、2001年8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)の認可を受けた。2004年5月18日ベイラー医科大学において第1例目の前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行された。本臨床研究とベイラー医科大学で行われている IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究とのプロトコル比較表を以下に提示する。

研究名	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学	
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)	
実施症例	未実施	4 名(平成 19 年 6 月現在)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター		
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室 (同一の構造、方法にて製造)		
遺伝子	Interleukin-12		
ベクター投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp	
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp	
対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B,C,D	B,C,D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準3人 (最大6名) 標準21人 (最大36名)	各レベル標準3人 (最大5名) 標準21人 (最大35名)

注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺
治療としての 位置付け	局所および全身治療	

ペイラー医科大学では平成19年6月現在までに4例に対して実施されており重篤な副作用は発生していないとの情報を得ている。本臨床研究において用いるIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターはペイラー医科大学の臨床研究と同じく、同医科大学遺伝子ベクター室において作製されたものを用いる。

前立腺癌以外の癌種について：

本臨床研究と同様にIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については進行消化器癌を対象とした第1相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認された。また21例中1例に部分寛解（PR:partial response）10例に病状の安定化（SD: stable disease）を認め有効症例が確認されている（2004年）。

ベクターの局所投与以外の手法として、IL-12 遺伝子発現レトロウイルスベクターを用いて体外において遺伝子導入された自己の線維芽細胞を腫瘍内に投与する手法を用いて種々の悪性腫瘍を対象とした研究が米国において実施された。副作用はまったく出現せず、腫瘍の50%以上の縮小を6例中2例に認めた（1996年）。さらに、自己の悪性黒色腫細胞にプラスミドを用いてIL-12を遺伝子導入しIL-12産生細胞を調製し、ワクチンとして皮下投与するという手法を用いた研究が実施された（1998年ドイツ）。本研究においては軽度の発熱を認めたのみで重篤な副作用は出現しなかった。2例において自己の腫瘍細胞に対する遅延型皮膚反応を認め、1例に若干の腫瘍縮小効果を認めた。

## ② 前立腺癌遺伝子治療について

アデノウイルスベクターを前立腺局所に投与することの手技、安全性、ならびに倫理的、科学的妥当性に関しては、既に米国ペイラー医科大学ならびに岡山大学医学部・歯学部附属病院において実施されている Herpes Simplex Virus-thymidine kinase（以下：HSV-tk）遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビル（GCV）を用いた遺伝子治療臨床研究において確認された。岡山大学では内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象としHSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後ガンシクロビルを全身投与する臨床研究を実施した。本研究は2001年3月より第1例目の被験者の治療を開始し、平成17年7月に最終登録例である9例目の被験者の治療を実施し、6ヶ月以上観察し、臨床試験を終了とした（8名のべ9症例）。9症例すべてにおいて有意な副作用を認めなかった。また、ウイルスベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は軽度でかつ一過性であった。ウイルスベクター投与後、48時間において採取した組織においてmRNA レベルでのHSV-tk 遺伝子の発現が確認された。治療効果の指標として腫瘍マーカーであるPSAは9例中6例において低下した。結論として局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後GCVを全身投与することの安全性および治療効果が確認された。

転移病巣に対するアデノウイルスベクターの直接投与については、米国バージニア大学、神戸大学において実施され、オステオカルシン・プロモータを組み込んだHSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの投与が承認され安全性・有効性が確認された。（注：ペイラー医科大学・岡山大学はサイトメガロウイルス・プロモータを使用。）

安全性に  
ついての評価

### 1. 遺伝子導入方法の安全性

#### 1) ウイルスベクターの純度と安全性

本遺伝子治療臨床研究に用いるベクターの生産には、以下のマスターセルバンク、マスターウイルスバンクを用いた。以下のバンクはFDAのガイダンスに沿った管理試験項目の条件を満たしている。

	<p>2) 増殖性ウイルス出現の可能性  アデノウイルスベクターの大量製造過程でベクターのゲノムが 293 細胞に組み込まれている E1 遺伝子領域に近接し、相同組み換えが起きることがあり、その結果、現在のアデノウイルスベクター生産の技術では、ある程度の確率で RCA が生じてしまうことは避けられないと考えられている。現在、FDA では RCA 量の許容限度は「<math>3 \times 10^{10}</math> ウイルス粒子あたり 1 個未満」であることを推奨している。当該遺伝子治療臨床研究で使用されるアデノウイルスベクターは現在ペイラー医科大学で作製されており、「<math>3 \times 10^{10}</math> ウイルス粒子あたり 1 個未満」であるという条件を満たしたものが使用される。</p> <p>3) 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性  アデノウイルスベクターを腫瘍内投与した場合の腫瘍周囲及び全身の他臓器への偶発的遺伝子導入の可能性を調べるために、ヒト前立腺への至適投与量 (<math>1.0 \times 10^{10}</math> PFU: ペイラー医科大学での臨床研究より) の 0.5 倍から 50 倍 (体重換算) に相当するベクター量をマウス前立腺に投与しその広がりを解析する動物実験がペイラー医科大学で実施された。その結果、前立腺部においては容易にベクター DNA が検出され、解剖学的に隣接する臓器である精嚢、リンパ節 (骨盤部)、肝臓、腸管への広がりが認められた。尿、精嚢液、精子、肺への広がりは全く認められなかった。精巣においては高濃度注入群において 1 匹に認められた。血液においては低濃度において 1 匹にのみ認められた。</p> <p>マウスにおいては、アデノウイルスベクターの注入側からの広がりは解剖学的に隣接する臓器にのみ主に認められ、全身的な広がりを示唆する所見はなかった。またベクターの投与によるマウスの死亡は認めなかった。この動物実験は条件上、マウス前立腺体積の約 3 分の 1 に相当する容積のベクター液を注入する実験であり一部は周囲に漏出したと考えられるが、ヒトの場合は 30 分の 1 又は 15 分の 1 に相当する容積を注入するため (ヒト前立腺 30ml、注入ベクター量 1ml 又は 2ml) 漏出の可能性は極めて低いと考えられる。</p> <p>4) 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性  IL-12 遺伝子発現アデノウイルス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、患者の家族や医療従事者への感染を防止するために、治療後尿中ならびに血液中のアデノウイルスベクターの存在がないことを確認するまで個室管理とし、治療中はマスクや予防衣の着用など注意を払う。</p> <p>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。</p> <p>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、哺乳類の細胞をトランスフォームさせる機能をもちげっ歯類における癌化に関与しているとされる E1 領域を IL-12 遺伝子発現ウイルスベクターにおいては欠損させてあり、癌原性はないと考えられる。</p>
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	培養前立腺癌細胞ならびに動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた際の抗腫瘍効果および安全性は確認されており、臨床研究プロトコールは、2001 年 8 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、2004 年 5 月 18 日ペイラー医科大学において第一例目の前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行され

	<p>た。今回用いる予定である IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、ベイラー医科大学遺伝子ベクター室において作製され、安全性試験を通過した製品として、ベイラー医科大学より供給を受ける。また、研究者の那須保友は、ベイラー医科大学泌尿器科にて IL-12 遺伝子発現アデノウイルス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立案から直接関与し、以後継続的に岡山大学よりベイラー医科大学に研究員を派遣している。</p> <p>岡山大学ではすでに前立腺癌・肺癌に対する遺伝子治療臨床研究が所定の審査を通過して（肺癌：非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究、前立腺癌：前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究)、既に研究が実施されている。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）およびそれらの運用を含めてすでに整備され、経験豊富なスタッフを擁しており、病院側の受け入れ態勢は整備されている。また、平成 15 年度からは遺伝子治療を代表とする一連のトランスレーショナル・リサーチの推進を目的として岡山大学医学部・歯学部附属病院内に遺伝子・細胞治療センターが設置され稼働しており、当該遺伝子治療臨床研究も同センターの活動の一環として実施される予定である。</p> <p>以上の背景から、今回申請する遺伝子治療臨床研究を岡山大学医学部・歯学部附属病院で実施することは、十分可能であると判断した。</p>
<p>実施計画</p>	<p>1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画</p> <p>選択基準に合致し、除外基準に抵触しない被験者は、遺伝子治療を開始する 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。LH-RH アゴニストについては本遺伝子治療実施中も登録前の用法・用量を継続投与とする。その理由であるが、前立腺癌細胞を用いた基礎実験において、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いる。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。また Taylor らによると、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 ヶ月と有意な差を認め、内分泌療法を継続することの有用性が報告されている。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、前立腺癌の生物学的特性ならびに患者への不利益を最小限に抑える目的から、LH-RH アゴニストを継続することが妥当であると判断した。</p> <p>本遺伝子治療前検査にて選択基準に合致し、除外基準に抵触しないことを明らかにした上で、治療計画にしたがって遺伝子治療を施行する。IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による副作用の評価、治療効果、及び IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの最大耐量（定義：最大の効果を認めかつ最小の副作用を示す用量）を推定するために、投与量を <math>1.0 \times 10^{10}</math> vp (viral particle) から開始して 2 ないし 5 倍ずつ増量し <math>5.0 \times 10^{10}</math> vp, <math>1.0 \times 10^{11}</math> vp, <math>5.0 \times 10^{11}</math> vp, <math>1.0 \times 10^{12}</math> vp, <math>5.0 \times 10^{12}</math> vp に至る 6 レベルの治療群を設定する。各用量レベルでそれぞれ 3 人の被験者を評価し有害事象が発生しなければ逐次用量レベルの上昇を行う。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、試験を中止するかを判断する。最大耐量 (Maximum Tolerated Dose, MTD) では 3 人に投与して問題なければさらに 3 人、計 6 人の被験者で評価する。つまり、各用量レベルでの安全性の検討（最大耐量の推定）を行った後、治療効果の観察も行うことを目的とする第 I / II 相試験として計画した。</p> <p>2. 治療実施</p> <p>本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）もしくは立会人（患者に家族ならびに親族がない場合、患者の親しい間柄の人を同席させたいという希望が患者からあった場合）に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第 1 回目）を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール（患者登録）し治療前検査を</p>

開始する。治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。安全・効果評価・適応判定部会には岡山大学医学部・歯学部附属病院外部の前立腺癌専門医が委員として参加している。安全・効果評価・適応判定部会にて被験者における全血清 PSA 測定値、画像評価ならびに前立腺癌と診断されてからの治療内容が提出され、本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）もしくは立会人に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第2回目）を行う。同意が得られた場合に限り、以下の方法によって臨床研究を実施する。

① 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌（非転移症例）

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

② 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌（有転移症例）

②-1. 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

②-2. 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用いて病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1-2カ所（最大2カ所）に注入する。ウイルスベクター液は1ヶ所につき1ml とする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて局所麻酔を施行し、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入する。CT ガイド下で注入する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部 CT 室にて局所麻酔を施行し、CT ガイド下にベクターを注入する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

その後、プロトコールを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。重篤な副作用を認めない場合は28日毎に3回の治療を実施する。3回目の治療を終了した28日後に、臨床症状、検査結果および病変部の総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行う。総合評価にて安全性が確認されるとともに悪化傾向を認めず（PD:Progressive Disease でなく）、追加投与について患者の希望があり了解が得られた場合、担当医師および総括責任者は12週時点の総合評価を含めた治療中、治療後に集積されたデータを含めて、追加投与申請書を安全・効果評価・適応判定部会に提出する。部会において追加投与に関する適格性を科学的、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する。投与回数の上限は設定しないが、「治療中止の判定基準」を満たす場合には投与を中止する。また投与を継続する場合は、初回と同様に3回目毎に治療を終了した28日後に総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価する。

### 3. 安全性の評価

以下に示すタイムスケジュールにて安全性の評価に関する検査を行う。

項目	投与前	1日後	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回目投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと5年 目まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 最終投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与4週後をさす	
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する			○	○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分画を 含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリアランス	○						○		
出血・凝固時間	○						○		
PT, PTT, fibrinogen	○						○		
尿沈渣	○		○	○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○		○	○	○	○	○	○	○
アデノウイルス中和抗体測定	○		○	○	○	○	○	○	○
アデノウイルススペクター の同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○	○		
心電図	○			○			○	○	○
胸部レントゲン	○		○				○	○	○
尿流状態 (Uroflowmetry, MAscure)	○*		○*		○*	○*	○*	○*	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	10.2	14	8.2	8.2

\*前立腺内注入例または前立腺全摘出術後の局所再発例に実施

### 4. 有効性の評価

以下に示すタイムスケジュールにて効果判定に関する検査を行い、臨床症状や腫瘍マーカーの推移、画像評価を行う。

項目	投与前	1, 2, 3, 5 日	7日 後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回目投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと 5年目まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 最終投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与4週後をさす	
PSA	○			○	○	○	○	○	○
血液中リンパ球サブセット	○	○	○	○	○	○	○	○	○
NK細胞活性	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清サイトカイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清CTL誘導ペプチドに対 する特異的IgG抗体	○				○	○		○	○
HLA-Aタイピング	○							○	○
経直腸的超音波検査 (注)	○						○	○	○
前立腺生検または 組織生検	○	○*					○		○ (1年毎) **
骨シンチ	○							○	○
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○						○	○	○
前立腺部MRI (注)	○						○	○	○
腹部、骨盤部CT	○						○	○	○
採血量 (ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5

注) : 前立腺全摘除例については吻合部の検査を行う

\* : 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合48-72時間後に実施 (遺伝子発現解析)

\*\* : 同意を得られた患者に対して治療終了1年後より1年毎に旅行予定 (組織学的治療効果判定)

5. 本臨床研究終了 (最終投与から4週後をさす) 後、患者のフォローアップとして岡山大学医学部・歯学部附属病院において投与後60ヶ月まで追跡調査をする。

### 6. 選択基準

以下の条件を満たす患者を対象とする。

- (ア) 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
- (イ) 内分泌治療を施行中であること。
- (ウ) 血中テストステロンが1 ng/ml以下の症例。
- (エ) 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、最終的にPSA値が4.0 ng/ml以上) を認める生物学的に活動性の局所再燃癌。被験者登録時から3回前に測定した数値からの3回連続上昇となる。

	<p>(オ) 前治療の影響がないと考えられる症例。</p> <p>(カ) 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。</p> <p>(キ) 被験者は正常な骨髄機能、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 <math>&gt;2000/\text{mm}^3</math>、血小板数 <math>&gt;100,000/\text{mm}^3</math>、総ビリルビン <math>&lt;1.5\text{mg/dl}</math>、クレアチニン <math>&lt;1.5\text{mg/dl}</math>。</p> <p>7. 除外基準 以下の項目に該当する被験者は本研究の対象としない。</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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。</li> <li>2) 本研究参加 6 ヶ月以内に未承認薬の臨床試験（治験も含む）に参加している場合。</li> <li>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。</li> <li>4) その他、担当医が不相当と認める場合。</li> </ol> <p>8. 被験者の同意の取得方法 内分泌抵抗性前立腺癌の病態と従来の治療法に対し抵抗性であること、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績に関して十分な説明を患者本人ならびに家族（あるいは親族）に対して行い、十分な理解を得た上で自由な意思によって本臨床研究の被験者となることについて文書に基づいて同意を得る。 同意の取得は患者登録時、および全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応有りと判定した後の計 2 回行う。 また、同意に関連する新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者ならびに家族（あるいは親族）に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。</p> <p>10. 実施期間および目標症例数 本研究の実施期間は最終症例の治療終了 5 年間とする。予定症例数は計画通りに進めば 21 例、各用量レベルでの副作用の出現の有無によって最大 36 例とする。</p>
備 考	<p>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、同意書に署名するものとする。なお、同意後も被験者から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ものである。</p> <p>個人情報については、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程」に沿って適切な取り扱いを行うものとする。</p> <p>なお、本計画については、平成 15 年 11 月 27 日付けで審査委員会より研究計画の実施について適当である旨の判定を受けているが（別紙 1）、その後、厚生労働省との調整による変更等について、平成 18 年 7 月 14 日付けで持ち回りにより審査委員会の了承を得ている（別紙 2）。</p> <p>さらに上記平成 18 年 7 月 14 日以降における実施計画書等の変更点に関して、平成 19 年 1 月 29 日に審査委員会が開催され、変更点として、免疫学的検査項目の追加、それに伴う研究者の追加及びそれらの変更に伴う概要書、計画書及び同意説明文書の改訂について審査された。その結果、変更内容は妥当であること、研究計画書等が適切に変更されていることが確認され、研究計画遂行に支障がないものと判定された（別紙 3）。</p>

別紙

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

岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会の遺伝子治療臨床研究実施計画に係わる審査状況及び実施計画が適当であると承認した理由は、次のとおりであります。

1. 審査の経過状況

泌尿器科学講座公文裕巳教授から、平成15年3月14日付けで岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会（以下「審査委員会」という）規定に基づき、「前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究」の審査申請書の提出があった。

平成15年5月7日第1回審査委員会を開催し、平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成14年3月27日制定）に基づき、本遺伝子治療計画の研究の目的、対象疾患、遺伝子の導入方法、米国におけるこれまでの研究の成果、安全性及び有効性、インフォームド・コンセント等について審査を開始した。

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、総括責任者である泌尿器科学講座公文裕巳教授ほか臨床研究者から詳細な説明を求めるとともに、審査委員の質疑に対する説明資料の提出を求め、慎重に検討を重ねた。

この間、米国テキサス州ベイラー医科大学におけるウイルスベクターの品質および安全性に関する資料の内容を調査検討した結果、十分評価できるものと判定した。

また、審査委員会に本遺伝子治療の安全性や効果の評価並びに被験者の適応性に関する専門的事項を調査検討する組織として、生物薬品製造学等の研究者を含めた5名の部会員から成る「安全・効果評価・適応判定部会」を設置し、本臨床研究の具体的実施に関して、その留意点、改善点等があれば審査委員会に意見を提出する体制とした。

さらに、「説明書と同意書」については、よりわかりやすい内容とする観点から、報道機関に公開し、広くその意見を反映させるなど社会に開かれた臨床研究とすべく審査が進められた。

平成15年11月27日開催の第3回審査委員会において、今日までの審議結果から、平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成14年3月27日制定）もクリアされており、文部科学省、厚生労働省へ申請手続きを進めることの結論に達した。

2. 実施を適当と認める理由

審査委員会では、提出された遺伝子治療臨床研究実施計画概要書、実施計画書等を慎重

に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究は、平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成14年3月27日制定）の必要要件を満たしており、また、ウイルスベクターの品質及び安全性は十分評価できるものであると認め、文部科学省、厚生労働省に申請することを決定した。

平成15年11月27日

岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長

白鳥康史



研究計画の変更について岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会における審議結果

平成 15 年 11 月 27 日付けで岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会より研究計画の実施を適当と判定された「前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究」について、当該判定以降における実施計画書等の変更点に関して、持ち回りにより審査委員会を開催し、審議の結果、変更点については適切に変更されていることが確認され、研究計画遂行に支障がないものと判定した。

平成 18 年 7 月 14 日

岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会副委員長

二 宮 善 文 

別紙3：平成19年1月29日 審査委員会の審議結果通知

研究計画の変更について岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会  
における審査結果

平成18年7月14日付けで岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査  
委員会より研究計画の一部変更について適当と判定された「前立腺癌に対する Interleukin-12  
遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究」について、当該判定以  
降における実施計画書等の変更点に関して、平成19年1月29日に審査委員会を開催し  
た。

変更点として、免疫学的検査項目の追加、それに伴う研究者の追加ならびに関連した概  
要書、計画書及び同意説明文書の改訂について諮り、検査項目の意義、妥当性、測定法、  
研究者の業績等について審査の結果、変更内容は妥当であること、研究計画書等が適切に  
変更されていることが確認され、研究計画遂行に支障がないものと判定した。

平成19年1月29日

岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長

伊 達



遺伝子治療臨床研究実施計画書

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた  
遺伝子治療臨床研究

岡山大学医学部・歯学部附属病院

1. 遺伝子治療臨床研究の名称

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた  
遺伝子治療臨床研究

2. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに本遺伝子治療臨床研究において担当する役割

2-1. 総括責任者の氏名及び担当する役割

公文裕巳 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
病態制御科学専攻（泌尿器病態学分野）・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

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

那須保友 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
病態制御科学専攻（泌尿器病態学分野）・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、臨床効果判定

雑賀隆史 岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・講師  
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、  
ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定

賀来春紀 岡山大学医学部・歯学部附属病院・遺伝子・細胞治療センター・助教  
患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察

江原 伸 岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・助教  
患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察

小林知子 岡山大学医学部・歯学部附属病院・泌尿器科・医員  
患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析

谷本竜太 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
病態制御科学専攻（泌尿器病態学分野）・大学院生

患者への説明及び同意の取得、分子生物学的解析

研究協力者

- 清水憲二 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
病態制御科学専攻（分子遺伝学分野）・教授  
組織内における Interleukin-12 遺伝子の同定
- 山田雅夫 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
社会環境生命科学専攻（病原ウイルス学分野）・教授  
ウイルスベクター力価の測定
- 中山睿一 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科  
病態制御科学専攻（免疫学分野）・教授  
免疫学的解析
- 七條茂樹 久留米大学医学部免疫学講座・准教授  
CTL誘導ペプチドに対する特異的 IgG 抗体の測定
- Timothy C. Thompson  
ベイラー医科大学・泌尿器科・教授  
遺伝子治療臨床研究における全般的指導
- Brian J. Miles  
ベイラー医科大学・泌尿器科・教授  
遺伝子治療研究における基礎的・臨床的解析の指導
- Malcolm K. Brenner  
ベイラー医科大学・小児科・教授・遺伝子・細胞治療センター所長  
ウイルスベクターの作製、安全性のチェック、品質管理
- 枝村康平 ベイラー医科大学・泌尿器科・研究員  
ウイルスベクターに関する情報の提供

### 3. 遺伝子治療臨床研究の実施設の名称及びその所在地

名称：岡山大学医学部・歯学部附属病院

所在地：〒700-8558 岡山市鹿田町 2-5-1

(TEL) 086-235-7507 (総務課) 086-235-7287 (泌尿器科)

(FAX) 086-232-1534 (総務課) 086-231-3986 (泌尿器科)

### 4. 遺伝子治療臨床研究の目的

本臨床研究は、内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対し Interleukin-12 (以下：IL-12) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合の a) 安全性の検討 (最大耐量の推定) を確認することを本試験の主な目的とする (主要エンドポイント)。また腫瘍免疫を中心とした b) 免疫学的反応の検討 (局所および全身反応の解析) ならびに c) 治療効果の観察 (評価可能症例) を行い、治療効果判定を総合的に解析する (副次エンドポイント)。

遠隔転移の有無にかかわらず内分泌療法中に再燃してきた前立腺癌症例に対して、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で前立腺腫瘍内もしくは局所ないし遠隔転移 (軟部組織を含む) 病巣内に直接投与する。その際の質的、量的安全性を確認し、腫瘍免疫を中心とした生体における免疫学的反応の検討を行うとともに治療効果の判定を行い、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる分子生物学的効果、免疫学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの IL-12 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II 相試験である。

本臨床研究は米国ベイラー医科大学の遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、同医科大学の Timothy C. Thompson 博士等の研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。本臨床研究に用いられる IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターは同じく研究協力者である Malcolm Brenner 教授が所長を務める同医科大学遺伝子・細胞治療センターで作製され、直接供給される。

## 5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

### 5-1. 研究区分 遺伝子治療臨床研究

### 5-2. 対象疾患に対する現時点での知見

#### 5-2-1. 前立腺癌に対する現時点での一般的な知見

近年、本邦における前立腺癌患者の発生は増加の一途を辿っている。前立腺癌による死亡者数は、1950年には83人であったが、1970年にはその約10倍の930人となり、1990年には約45倍の3,460人となった。さらに1999年には7,005人に達し、1990年から僅か10年足らずの間に2倍以上の増加となっている。またその罹患患者数についても、1994年は10,940人であったが、2015年には30,285人へと著しい増加が予測されている。一方米国においては、2003年度は200,900人が新たに前立腺癌と診断され、28,900人が同疾患で死亡すると推定されている<sup>1)</sup>。

また前立腺特異抗原（PSA: Prostate specific antigen）のスクリーニングにより、前立腺に限局した早期癌の患者が増加してきており、本邦では診断時における限局性前立腺癌（病期 A, B）症例が全体の約40%となっている。限局性前立腺癌の場合、一般的に根治的前立腺全摘出術が適応となる事が多いが、外照射治療や2003年より本邦に導入された密封小線源治療といった組織内照射などの放射線治療の普及により、外科的切除以外での治療法も選択される。放射線治療に関しては初期治療として施行された場合の有効性は認められており、特に癌病巣が前立腺被膜内に限局した病期 B 症例に対する局所療法としての有効性は確立されている<sup>2)</sup>。これら外科的切除ならびに放射線治療によって多くの症例は根治可能であるものの、30-40%の症例において PSA 再発をきたしており、再発後の治療法選択等が今日的な臨床上的問題点であるが<sup>3)</sup>、本邦では内分泌療法が主に選択される。

一方、診断時において全体の約30%を占める、被膜をこえて進展した症例（病期 C）の場合は、前立腺全摘出術単独では根治する可能性は低く、内分泌療法併用前立腺全摘出術または、初期治療としての内分泌療法と放射線治療の併用療法が行われる。病期 C のみに限られたものではないが、それを中心とした局所進行性前立腺癌に対する内分泌療法と放射線療法の併用療法のいくつかの大規模比較試験では、放射線療法単独より併用群のほうが無病生存率、癌特異的生存率は有意に勝つ

ているものの、併用群においても無病生存率は3年から5年で21%から74%であり、概して約半数例で再発を認める<sup>4)</sup>。内分泌療法単独での治療においても40-60%の症例において2-3年以内に局所再発もしくは遠隔転移を生じると報告されており<sup>4)</sup>、このような内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対する放射線治療の有効性に関しては、排尿障害などの症状の緩和に対しては約90%と良好な成績が報告されているものの、2年以内に約75%の症例においてPSAの再上昇を認め、予後の改善に関しては満足すべき成績は得られていない<sup>5)</sup>。しかも放射線治療については、種々の合併症が認められ、頻度は3-5%と低率とはいえ重篤な晩期合併症（消化管穿孔、潰瘍）の発生も報告されており、Quality of Life(QOL)の観点から問題があるといえる<sup>5)</sup>。

また診断時遠隔転移を有する症例（病期D）は全体の約30%を占めており、治療法としては内分泌療法が第一選択である。病期D症例に対する放射線治療の有効性は、骨転移やリンパ節転移に伴う疼痛緩和には有効性が示されるものの、放射線照射部以外の病巣に対する効果は期待できない。

このように内分泌療法は外科的切除後の再発症例のみならず放射線治療後の再発症例、局所進行例、転移症例に対し幅広く用いられるが、内分泌療法治療中にも関わらず再燃してきた内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対しては一般に抗癌化学療法が選択される。

内分泌抵抗性再燃前立腺癌に対する抗癌化学療法として、本邦では保険適応のある化学療法剤であるエストラサイト、イフォマイド、シスプラチン、ペプロマイシンおよびUFTが挙げられる。これら抗癌化学療法剤は、一過性のPSA減少、および症状の改善は期待できるものの、生存率の延長効果は認められていない<sup>6)</sup>。また対象症例の多くが高齢者であり患者の認容性に問題がある。2004年New England Journal of Medicineに発表された2編の大規模RCT(Randomized controlled study)に関する報告ではいずれもドセタキセルを用いた抗癌化学療法により内分泌療法抵抗性前立腺癌に対する生命予後延長効果が認められた。TAX327はドセタキセル+プレドニゾン、SWOG9916はドセタキセル+エストラムチンを用いた多施設共同ランダム化試験でありいずれも欧米での標準療法であるミトキサントロン+プレドニゾロンをコントロール群とした<sup>6) 7)</sup>。

TAX327では、平均生存期間が3週ごとのドセタキセル群18.9ヶ月に対し、コントロール群16.5ヶ月であり、PSA効果もそれぞれ45.8%、32%であった。また、SWOG9916では、平均生存期間がド

セタキセル群が18ヶ月に対し、コントロール群15ヶ月であり、評価病変への効果はそれぞれ17%、10%であった。その結果を踏まえ、米国では2004年5月にドセタキセルの内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌への使用が承認された。しかし現時点では本邦において保険適応はなく、保険適応取得に向けた臨床試験が実施されている現状である。また海外において有効性の高いといわれている taxane-based chemotherapy は血液系を中心とした grade3/4 の副作用を45-54%に認め、治療関連死を0.3-2%に認めている<sup>67)</sup>。対象となる患者として高齢者が多い現実を考えるとより low risk and high benefit な治療法の開発が望まれている。

#### 5-2-2. 前立腺癌に対する新しい治療法として注目されている IL-12 遺伝子治療

古くから免疫系を介した腫瘍特異的免疫療法は注目されてきたが、免疫抑制がかかった担癌状態のなかで腫瘍の退縮を導くメカニズムが今日の実験系で次第に明らかになってきた。腫瘍免疫のなかでも、腫瘍特異的免疫活性を賦活化させるサイトカインの1つとして Interleukin-12(IL-12)が注目されている。IL-12は、ナチュラルキラー(NK)細胞に直接作用し、その細胞傷害活性(CTL)を誘導ならびに増強することやNK細胞およびT細胞からのインターフェロンガンマ(IFN- $\gamma$ )産生の誘導によって抗腫瘍効果を発揮することが広く知られている<sup>8)</sup>。しかし種々の癌を対象とした臨床試験においてIL-12タンパクの静脈内投与後、重篤な副作用が発生し死亡例が発生した<sup>9)</sup>。この臨床試験におけるIL-12タンパク投与は、(用量設定試験においては実施された)2週間前に実施するテスト投与を省略し、500ng/kgのIL-12タンパクを静脈内に連日5日間投与し、3週ごとに2回投与するスケジュールであった。重篤な副作用の原因が、テスト投与省略による血清中インターフェロン $\gamma$ 濃度の著明上昇と相関していると判明した<sup>9)</sup>。引き続きIL-12タンパクの皮下投与に投与方法を変更し、悪性腫瘍<sup>10)-13)</sup>、C型肝炎<sup>14)</sup>を対象に臨床試験が実施され、静脈内投与よりも低い投与量と長い投与間隔における安全性と有効性が確認された(皮膚T細胞性リンパ腫10例を対象に50~300ng/kgを週2回24週皮下投与するスケジュールで実施された。副作用は軽度の発熱、頭痛であり限られた症例においてのみ認められた。評価可能症例9例中5例において完全もしくは部分寛解が認められた<sup>12)</sup>)。これら結果を踏まえ、より確実な安全性の確保と高い臨床効果を目指し、

IL-12 遺伝子治療の研究が開始され、前立腺癌を含む様々な癌種において IL-12 遺伝子 *in vitro* および *in vivo* 実験が行われ、遺伝子治療の安全性と有用性が動物実験において確認された<sup>14)-16)</sup>。

研究担当医師である那須保友は、マウス前立腺癌同所移植モデルを用いた前臨床試験において、マウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与により、1) 局所前立腺腫瘍の発育抑制、2) 肺転移および骨転移の抑制という全身効果、3) 生存期間の延長効果、を確認し、転移病巣の治療を目的とした IL-12 遺伝子の局所投与の有用性を明らかにした<sup>17)</sup>。すなわち局所への遺伝子導入 (*in situ gene therapy*) による免疫の賦活化などを介した全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠を明らかにした。

上記のような知見から、本臨床研究の対象患者として、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌患者ならびに内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌患者を選定し、アデノウイルスベクターにより IL-12 遺伝子を直接癌細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。

### 5-3. 本遺伝子治療臨床研究の概要

#### 5-3-1. IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製

本臨床研究に用いられる IL-12 ウイルスベクターは、現行の FDA ガイダンス、GMP 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原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとにベイラー医科大学遺伝子ベクター室において生産されており、ベイラー医科大学より供与を受ける。(詳細は「7-1-1. 遺伝子導入に用いるアデノウイルスベクターの純度」参照)

#### 5-3-2. 対象疾患の選定

本臨床研究では病理組織学的に前立腺癌と診断され、内分泌療法で治療された患者のうち、経過中に腫瘍マーカーである前立腺特異抗原(PSA:Prostate Specific Antigen)を用いた生化学診断上、内分泌療法が無効と診断された症例を対象とし、以下の3カテゴリーに分類する。

##### ①. 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌：(非転移症例)

外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法(放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む)の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所

再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者。

②. 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌：(有転移症例)

前立腺全摘出術の有無により、2 カテゴリーに分類する。

②-1 前立腺全摘出手術未施行例

前立腺癌診断時、既に臨床的に遠隔転移を有し、外科的切除により根治不能な進行前立腺癌症例で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断された患者。

②-2 前立腺全摘出手術施行例

根治的前立腺全摘出術後に局所ないし遠隔転移（軟部組織を含む）にて再発した前立腺癌症例で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断され、かつ再燃時に組織学的に転移が確認された患者。

5-3-3. 被験者の選択基準

症例の選択に際し、次の項目に該当する被験者を対象とする。

- 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、医学的に本臨床研究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) 内分泌治療を施行中であること。(注記 2)
- 3) 血中テストステロンが 1 ng/ml 以下の症例。
- 4) 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、最終的に PSA 値が 4.0 ng/ml 以上) を認める生物学的に活動性の局所再燃癌。被験者登録時から 3 回前に測定した数値からの 3 回連続上昇となる。(注記 3)
- 5) 前治療の影響がないと考えられる症例。
- 6) 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。

- 7) 被験者は正常な骨髄機能、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 $>2000/\text{mm}^3$ 、血小板数 $>100,000/\text{mm}^3$ 、総ビリルビン $<1.5\text{mg/dl}$ 、クレアチニン $<1.5\text{mg/dl}$ 。

(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) 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<sup>18)</sup>ら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ならびに患者への不利益を最小限に抑える目的から、内分泌療法を継続することが妥当であると判断した。

(注記3) 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。

#### 5-3-4. 除外基準

症例の選択に際し、次の項目に該当する被験者は本臨床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) 本臨床研究参加6ヶ月以内に未承認薬の臨床試験(治験も含む)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) 当該臨床研究にいったん参加し何らかの理由で投与を終了した場合(重複登録の禁止)
- 5) その他、担当医が不相当と認める場合。

#### 5-3-5. 遺伝子導入法

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族(あるいは親族)もしくは立会人(患者に家族ならびに親族がいない場合、患者の親しい間柄の人を同席させたいという希望が患者からあった場合)に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第1回目)を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール(患者登録)し、治療前検査を開始する。治療前検査にて上述した選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。安全・効果評価・適応判定部会で本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族(あるいは親族)に対し、文書によるインフォームド・コンセント(第2回目)を行う。

説明と同意書は、本計画書に添付資料12-1、12-2、12-3(前立腺がん遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書)として含まれている書式である。同意書は2部作成し記名捺印または署名されたの1部を被験者に手渡し、他の1部を診療記録とともに保存する。

同意が得られた場合に限り、以下の方法によって本臨床研究を実施する。

1. 術当日、岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟5階遺伝子細胞治療センターに $-80^{\circ}\text{C}$ 凍結保管してあるIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクター液を封入しているポリプロピレン製クリオチューブを投与量に合わせた必要なクリオチューブを同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。

2. IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を専用のキャリアバック内に厳重に封入して、保冷下で岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室もしくは中央放射線部 CT 室に搬入する。
3. 各症例に対し、以下の方法にてアデノウイルスベクターを注入する。

①内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌（非転移症例）

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1 ないし 2 ヶ所（最大 2 ヶ所）に注入する。ウイルスベクター液は 1 ヶ所につき 1ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

②内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌（有転移症例）

②-1. 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1 ないし 2 ヶ所（最大 2 ヶ所）に注入する。ウイルスベクター液は 1 ヶ所につき 1ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

②-2. 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用いて病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1-2 ヶ所（最大 2 ヶ所）に注入する。ウイルスベクター液は 1 ヶ所につき 1ml とする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて原則として局所麻酔を施行し、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入する。CT ガイド下で注入する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部 CT 室内にて局所麻酔を施行し、CT ガイド下にベクターを注入する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

注入後の岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室ならびに岡山大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部 CT 室内の消毒、清掃は専門業者に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。重篤な副作用を認めない場合は28日毎に3回の治療を実施する。3回目の治療を終了した28日後に、臨床症状、検査および病変部の総合評価を行う。

ベクター液はベクター力価漸増式に6段階設定し、ステージアップの適応評価については各ステージ終了後に安全・効果評価・適応判定部会を開催することとし、当該ステージの最終症例における3回目投与28日以降に開催し全ての症例について3回目投与28日後までのデータを基に総合評価する。安全であると判定された後、次のステージを開始する。「安全・効果評価・適応判定部会」での判定結果については、会議毎に結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、その写しを遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見として報告する。規定にのっとり委員長は審査または調査を行い終了後速やかにその結果を岡山大学医学部・歯学部附属病院院長に報告する。岡山大学医学部・歯学部附属病院院長は委員長の報告を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに総括責任者に提出する。通知の写しは必要に応じ適宜所轄官庁に提出する。(指針第四章第四の規定に基づき)

4. 添付資料12-5. に掲げるタイムスケジュールで安全性の評価に関する検査(理学所見、血液一般検査、生化学一般検査、出血・凝固時間、尿検査、尿培養検査、尿中・血中ベクターゲノム数測定、尿中・血中の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、血中サイトカイン濃度)を行う。

5. 治療前において同意の得られた患者から、経直腸的前立腺生検術ならびに超音波または CT による生検術にてアデノウイルスベクターを注入した組織中の癌細胞の有無、アポトーシスの有無と程度、浸潤細胞の種類と程度を解析する。実施時期は初回投与後 3 ヶ月目(継続投与を行う際には、3 ヶ月ごとに実施)、投与終了 1 年後より 1 年毎とする。また、アデノウイルスベクター投与後の導入遺伝子の発現解析を目的として被検者の同意が得られ、主治医が医学的に可能と判断した患者のみを対象とし 1 回目のベクター注入終了 48-72 時間後に生検術を実施する。
6. 添付資料 12-5. に掲げるタイムスケジュールで効果判定に関する検査(血中サイトカイン濃度などの免疫学的解析、血清 PSA の測定、CT、骨シンチなどの画像診断)を行い、臨床症状の経過を観察する。
7. 本臨床研究終了後、患者のフォローアップとして岡山大学医学部・歯学部附属病院において投与終了後 60 ヶ月まで追跡調査をする。

#### 5-4. 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

##### 5-4-1. 従来行われてきた他の治療法との比較

前述のごとく、本臨床研究の対象疾患は内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌である。カテゴリー①である内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌に対しては放射線治療の選択があるものの、予後の改善に関しては満足すべき成績は得られていない。カテゴリー②である内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌に対しては抗癌化学療法の選択があるが、再燃前立腺癌に対する抗癌化学療法については taxane-based chemotherapy の有効性が海外において報告されつつあるが血液系を中心とした grade3/4 の副作用を 45-54%に認め、治療関連死を 0.3-2%に認めている。<sup>6)7)</sup> 対象となる患者として高齢者が多い現実を考えるとより low risk and high benefit な治療法の開発が望まれている。また分子標的薬の開発治験も実施されているがいずれも試験段階である。

##### 5-4-2. 遺伝子治療を選択した理由

IL-12 タンパクを用いた in vitro、in vivo 実験において、前立腺癌細胞株を含む多くの癌細胞株にて有効性が示され、その抗腫瘍効果のメカニズムが次第に解明されてきた<sup>8)</sup>。それら結果を受

け、種々の癌を対象とした IL-12 タンパクを用いた臨床試験が行われたが、静脈内投与後に重篤な副作用が発生し、死亡例も発生したことは前述した<sup>9)</sup>。その原因として、IL-12 タンパクの投与の手法が副作用発現および重篤度に有意に関連していると解析され、体腔内もしくは局所投与(皮下、IL-12 産生細胞の腫瘍内投与)では毒性が低いと結論付けられた。これら結果を踏まえ、より確実な安全性の確保と高い臨床効果を目指し、IL-12 遺伝子治療の研究が開始された。研究担当医師である那須保友は、マウス前立腺癌同所移植モデルを用いた前臨床試験において、マウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による局所前立腺腫瘍の発育抑制さらに肺転移、骨転移の抑制および生存期間の延長効果を確認し、転移病巣の治療を目的とした IL-12 遺伝子の局所投与の有用性を明らかにした<sup>17)</sup>。

また岡山大学泌尿器科では内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究(研究課題名:前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビル(GCV)を用いた遺伝子治療臨床研究)を実施した。治療用アデノウイルスベクターを前立腺内へ局所投与する手法で実施されたが、重篤な副作用は認められなかった。

Patients No	Increased CRP	hematuria	headache	Dermoreaction	others
<b>Level 1</b> 1x10 <sup>9</sup> PFU					
1		Grade 1			
2					Voiding disturbance pollakisuria increased LD
3			Grade 1		nausea
<b>Level 2</b> 1x10 <sup>10</sup> PFU					
4	Grade 1	Grade 1		Grade 2 (eczema)	Fever leukocytopenia
5	Grade 1		Grade 1		Increased T.bil
6	Grade 1				Micturition pain
7		Grade 1			
8	Grade 1				
9					

上の表に副作用の内訳を示す。Level 1 および Level 2 のベクター投与量であったが、研究期間を通じて grade3 もしくは grade4 の重篤な副作用は認められなかった。いずれも grade1-2 であり特に治療を要せず自然軽快し、副作用により治療を中止した症例は認められなかった。血尿、頭痛、発熱、

嘔気などをアデノウイルスベクター注入当日から3日目までに認めたが、軽度であり自然軽快した。

CRPの軽度かつ一過性上昇を高用量投与群の6例中4例に認めた。

また前立腺癌を対象にアデノウイルスベクターを局所投与することの安全性ならびに低侵襲性については上記のごとき岡山大学における臨床研究（前立腺内投与）ならびに神戸大学における臨床研究（前立腺内投与、リンパ節および骨などの転移巣への投与）において確認されており、わが国独自の研究成果の蓄積が存在する。

以上のように、本臨床研究の対象疾患として、有効かつ安全で低侵襲な治療法が確立していない内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌症例を選定し、アデノウイルスベクターによりIL-12遺伝子を直接癌細胞に導入する遺伝子治療法を実施することは安全性、低侵襲性ならびに進行を抑制するという有効性が確保される点において、他の治療法と比較して優れていることが十分に予想されると判断し、本遺伝子治療臨床研究を計画した。

表に当該遺伝子治療臨床計画と岡山大学で実施・終了したHSV-tk遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究との比較表を添付する。

研究名	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデ ノウイルスベクターを用いた 遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイ ルスベクター及びガンシクロビ ルを用いた遺伝子治療臨床研究	
承認日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 11 年 9 月 16 日 (国の承認)	
実施症例	未実施	9 名 (8 名のべ 9 症例)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター	アデノウイルスベクター	
遺伝子	Interleukin-12	HSV-tk	
対象となる患者	年齢	上限なし	上限なし
	前治療	内分泌療法	内分泌療法
	病期	B,C,D	B,C
	転移症例	含まれる	含まれない

	術後の再発	含まれる	含まれない
注入部位		前立腺、術後再発部位、転移部	前立腺
治療としての位置付け		局所および全身治療	局所治療
全身効果		マウスでは確認、 ヒトではこれから確認	マウスでは確認、ヒトでは一部確認された（米国）
米国での状況		FDA の実施承認済み、 2004 年 5 月に実施	36 例終了(2000)、拡大研究実施中 (オランダ、メキシコ)、他の治療との併用
安全性		確認中（米）	確認済み（日、米）
治療効果（日米を含め）		観察中（米）	有意な効果を確認（日、米）

## 6. 遺伝子の種類及びその導入方法

遺伝子治療の臨床応用は、外来遺伝子を効率よく標的細胞に導入することのできるベクターの開発により、現実のものとなってきている。その中でも、できるだけ多くの癌細胞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。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において、種々の組織での高い遺伝子導入効率が認められており、前立腺癌、肺癌などを対象にした遺伝子治療の基礎実験、臨床試験でもその有用性が確認されている<sup>19)、20)</sup>。特に、安全性の面からも腫瘍組織内に直接注入する in situ (in vivo) 遺伝子治療に適している<sup>21)</sup>。このような背景により本臨床研究では、IL-12 遺伝子を組み込んだ IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いる。

### 6-1. IL-12 遺伝子の構造と性質

#### 6-1-1. IL-12 遺伝子の構造

IL-12 遺伝子の構造およびアデノウイルスベクターの構造の詳細については添付資料 12-7. に記載する。

## 6-1-2. IL-12 遺伝子の性質

IL-12 は Natural killer (NK) 、 Cytotoxic T lymphocyte (CTL) 活性の誘導ならびに増強、さらには T 細胞および NK 細胞の分化刺激による NK、 T 細胞からの Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) の産生誘導により抗腫瘍効果を発揮することが広く知られている。一連の研究において、様々な癌種に対し IL-12 の用量依存的な殺細胞効果や転移抑制効果、持続的免疫反応が示されている<sup>22)</sup>。

### 6-1-2-1. IL-12 遺伝子の作用メカニズム (生物活性)

IL-12 は分子量約 70kDa (p70) の糖蛋白質で、1 個の分子内ジスルフィド結合により結ばれた分子量各 40kDa (p40) と 35kDa (p35) の互いに相同性のない 2 つのサブユニットより構成された異型二量体である。IL-12 は単球、マクロファージ、B 細胞および樹状細胞といった活性化された抗原提示細胞 (APCs) より産生され、その生物活性として以下のようなことが明らかとなっている。

- ① Natural killer (NK) 細胞、Lymphokine-activated killer (LAK) 細胞の誘導および細胞障害性の増強 (細胞障害性細胞への効果)。標的細胞としては腫瘍細胞、ウイルス感染細胞を含む。
- ② CD4+ および CD8+ T 細胞 (リンパ系細胞) の増殖促進。
- ③ マクロファージ、NK/LAK 細胞、T 細胞からのサイトカイン (IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  など) 産生の促進。
- ④ ナイーブ T 細胞 (Th0) から Th1 細胞への分化誘導

### 6-1-2-2. IL-12 遺伝子の作用メカニズム (抗腫瘍効果)

このような生物活性を持つ IL-12 の、様々な固形腫瘍に対する抗腫瘍効果が現在まで数多く報告されているが、そのメカニズムについては次のようなプロセスを通じて腫瘍退縮を達成できることが明らかとなっている<sup>8)22)</sup>。

- ① 投与局所におけるマクロファージなどの APCs、NK 細胞の誘導および活性化
- ② APCs および NK 細胞からの TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  などのサイトカイン産生促進
- ③ TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  そのものによる直接的な腫瘍増殖抑制効果の誘導ならびに TNF- $\alpha$ 、IFN- $\gamma$  によって活性化されるエフェクター細胞を介した抗腫瘍効果の誘導。

④ IL-12 タンパクによるナイーブ T 細胞(Th0)から Th1 細胞への分化誘導

⑤ APCs による腫瘍ペプチドの放出ならびに CTL 細胞 (CD8+ T 細胞) の活性化による全身的な抗腫瘍効果の誘導

このように IL-12 はそれが直接腫瘍細胞に作用して腫瘍細胞死を惹起するような物質ではなく、上記に述べた如く一般の免疫応答のなかで生体で産生されているサイトカインであり、悪性腫瘍に対しては宿主の NK 細胞、T 細胞を中心とする免疫系に作用し、その機能を高めることによって腫瘍退縮効果を誘導するのである。

## 6-2. 当該細胞を標的細胞とした理由

免疫抑制がかかった担癌状態の宿主で腫瘍退縮メカニズムを効率よく誘導する手法として、本遺伝子治療は、前立腺癌細胞を標的細胞とし、IL-12 遺伝子を導入する。癌細胞より分泌された IL-12 タンパクによって、感作された抗腫瘍 T 細胞、NK 細胞ならびに抗原提示細胞は活性化され、局所にて腫瘍抗原が高濃度に放出され、局所におけるさらなる抗腫瘍効果が発揮されるというワクチン効果が期待できる。またアデノウイルスベクターの前立腺癌細胞への遺伝子導入・発現効率ならびに抗腫瘍効果に関しては *in vitro* および *in vivo* 実験結果から良好な成績が得られている<sup>17), 23)</sup>。さらに本臨床研究における前立腺内へのアデノウイルスベクター液の注入は、一般診療にて行われている経直腸的前立腺針生検と手技的には同様であり、経直腸的超音波にて癌病変部を直視しながら注入可能である。また転移腫瘍に対するアデノウイルスベクター液の注入に関しても、CT ガイド下での転移病巣の針生検と手技的には同様であり、ベクター注入手技は容易であると考えられる。

## 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. 遺伝子導入方法の理論的根拠

ヒトアデノウイルス 5 型は、幼児期に気道感染によるいわゆる「かぜ」を起こすウイルスの一つである。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。

本遺伝子治療臨床研究にて用いられるベクターは、E1A 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 欠損領域には IL-12 の cDNA が、サイトメガロウイルス (CMV) ・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。この組み換えウイルスベクターは、E1A 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、このタンパク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、外来 CMV プロモーターから転写される IL-12 遺伝子のみが発現することになる。CMV 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、CMV 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 CMV 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、CMV 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 insertional mutagenesis 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。

### 6-3-2. 遺伝子導入方法の概略

本項については「5-3-5. 遺伝子導入法」の項を参照されたい。

### 6-3-3. IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製方法と構造

本臨床研究に用いられる IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、現行の米国 GMP 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、その製造工程から最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとにベイラー医科大学遺伝子ベクター室において生産されている。

詳細は添付資料 12-7. に IL-12 遺伝子の構造ならびにアデノウイルスベクターの構造を記載し、添付資料 12-8. に IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製方法を記載する。

#### 6-3-4. 本遺伝子治療臨床研究に関する研究成果

本研究は研究分担者の那須保友を中心に実施されている<sup>17)</sup>。

##### 6-3-4-1. 培養細胞を用いた研究成果

RM-9 マウス前立腺癌細胞株を用いた *in vitro* 実験において、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを細胞当たり 12.5~200 活性ウイルス粒子 (multiplicity of infections:MOI) 投与し、24 および 48 時間後の培養液中に分泌される IL-12 タンパク量を ELISA 法 (BioSource 社) にて検出した。その結果、ベクター投与量の増加に伴って、高いタンパク分泌量を認めた (最大 3-4ng/ml/200 MOI/48 時間)

##### 6-3-4-2. マウス動物実験系を用いた研究成果

###### 1) 局所腫瘍発育抑制効果

前臨床試験において IL-12 遺伝子治療の効果を検討するため、マウス前立腺癌同所移植モデルを用いた。5000 個の RM-9 マウス前立腺癌細胞株を C57B1/6 マウス (12 週齢、オス) の前立腺部に同所移植した。8-10 日後、腫瘍は 15-20mg のサイズとなり、 $5 \times 10^7$  から  $3 \times 10^8$  PFU のマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍内に注入した。ベクター投与 2 週間後にマウスは屠殺され、局所腫瘍サイズを評価した。マウス前立腺癌同所移植モデルにおける *in vivo* 実験結果であるが、 $1 \times 10^8$  PFU のベクター投与群において、ベクター投与 2 週間後の腫瘍サイズが有意に縮小していた (コントロール: 3226mg vs. IL-12:1359mg;  $p < 0.001$ )。 (図-1)

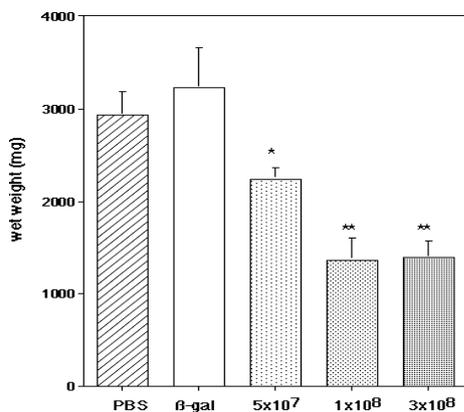


図-1

Tumor wet weight (average in mg, error of mean shown; 7 animals each group) was determined 14 days after virus injection. A dose of  $5 \times 10^7$  PFU of AdmIL-12 led to a significant growth suppression (\*  $p = 0.02$ ) compared to controls (PBS = phosphate buffer solution,  $\beta$ -gal = Adv/CMV/ $\beta$ -gal virus). Higher doses of AdmIL-12 ( $1 \times 10^8$  and  $3 \times 10^8$ ) led to enhanced growth suppression (\*\*  $p < 0.001$  compared to controls, and  $p = 0.05$  compared to the  $5 \times 10^7$  PFU group).

また骨盤内リンパ節への転移頻度も治療群において低下傾向をみとめた(コントロール: 83% vs. IL-12: 50%;  $p < 0.056$ )。(図-3-A)

## 2) 生存効果

上記と同じマウス前立腺癌同所移植モデルにて生存実験が行われた。生存実験では治療群において有意な生存期間の延長を認めた

(コントロール: 23.4 日 vs. IL-12: 28.9 日;  $p < 0.001$ )。(図-2)

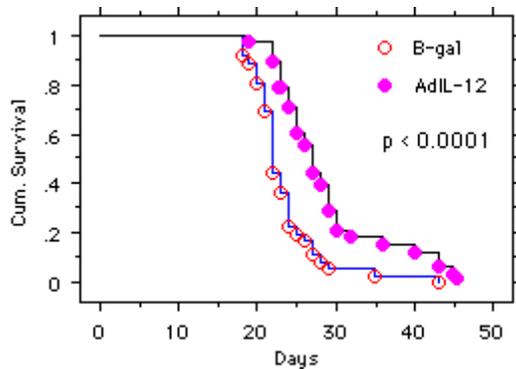


図-2 : Cumulative Kaplan-Meier survival plot for each of the groups of animals. There was a statistically significant ( $p < 0.0001$ ) difference between the IL-12 treated group and the control group by Mantel-Cox log rank analysis.

## 3) 転移抑制効果とその機構解析

肺転移モデルにおける転移抑制効果を検討するため、同所移植と同日にマウス尾静脈から RM-9 前立腺癌細胞株を注入し、6 日後に前立腺局所腫瘍内にマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを投与し、ベクター投与 8 日後にマウスを屠殺、肺転移巣がカウントされた。

肺転移モデルでは IL-12 群において有意な肺転移の抑制を認めた(コントロール:  $62 \pm 3$  個 vs. IL-12:  $24 \pm 5$  個;  $p < 0.017$ )。(図-3-B)

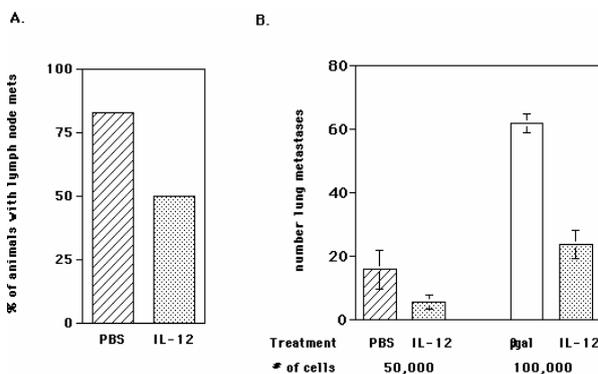


図-3 : A. Inhibition of spontaneous metastasis by AdmIL-12 treatment of orthotopic tumors was determined by histological evaluation of sections from pelvic lymph nodes collected from mice at day 14 after virus injection. The presence or absence of tumor cells was also confirmed by cytokeratin staining. Shown are the % of animals with lymph node metastatic deposits. B. Inhibition of lung metastases in the low metastasis protocol, 50,000 cells injected via tail vein at the time of orthotopic tumor initiation (left) and the high metastasis protocol at the time of orthotopic tumor initiation 100,000 cells injected via tail vein. The number of lung metastases was counted 8 days after intratumoral injection of AdmIL-12 (dose  $1 \times 10^8$  PFU) or PBS or ADV/CMV/βgal ( $5 \times 10^8$  PFU).

至適用量である  $1 \times 10^8$  PFU のマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与後、脾臓腫大以外の副作用は認められなかった (図-4)。ベクター投与後の局所および全身的免疫反応の評価であるが、マウス血清中の IL-12 レベルは投与翌日にピークとなり、投与3日後にはベクター投与前のレベルに低下し、脾細胞中のNK細胞活性はベクター投与翌日にピークとなり投与5日間は活性の上昇が認められた。ベクター投与14日後における脾細胞を用いたCTL活性は有意な上昇を認めていない。

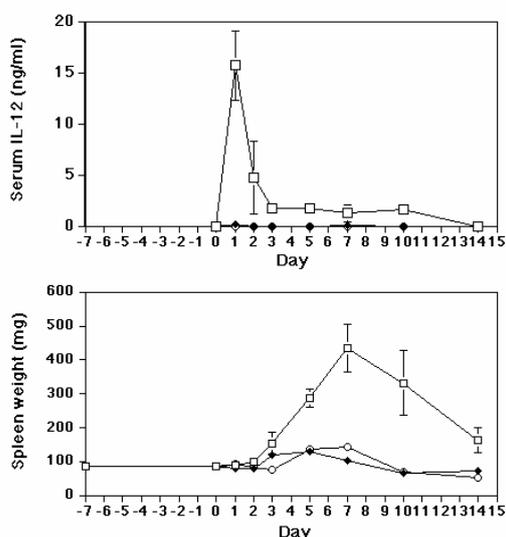


図-4 : Serum IL-12 concentration (in ng/ml, error of mean shown), and spleen size (in mg, error of mean shown) at various time points from orthotopic injection of RM-9 cells (day -7) through virus injection of the orthotopic tumor (day 0) with AdmIL-12 (□  $1 \times 10^8$  PFU, 3 animals), Adv/CMV/β-gal (◆  $1 \times 10^8$  PFU, 2 animals), or PBS (○ 1 animal).

#### マウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター

一投与群の腫瘍内において F4/80 を標識としたマクロファージの浸潤がベクター投与1-2日後にコントロール群に比べて有意に増加していたが、ベクター投与7日目までには速やかに低下していた。興味深いことに iNOS を標識したマクロファージの腫瘍内への浸潤がマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与7日目に有意に増加していた。iNOS を標識したマクロファージレベルは、数値的に F4/80 を標識としたマクロファージよりも少ないため、活性化されたマクロファージは F4/80 を標識としたマクロファージのごく少数であると考えられる。

腫瘍内における CD4+ T細胞および CD8+ T細胞の浸潤も、ベクター投与7日目に有意に増加していた。このような結果より我々は IL-12 局所遺伝子治療が NK細胞、マクロファージ、そして T細胞を介した抗腫瘍効果、転移抑制効果に関与すると結論した。

#### 4) マウス血清中の IL-12 濃度の変化と副作用

本研究は研究分担者の那須保友・江原 伸を中心に実施されている。

マウス血清中の IL-12 レベルは投与翌日にピークとなり (15000pg/ml)、投与 3 日後にはベクター投与前のレベルに低下した。IL-12 の上昇後に脾臓の重量は増加したが IL-12 レベルの低下に伴い脾臓の重量は正常に戻った。このことはヒトにおける rhIL12 (recombinant human IL-12 protein) の静脈内投与において血清中の IL-12 の上昇にともない発現した骨髄抑制、脾臓の腫大と類似した現象である。尚、一過性の IL-12 上昇に伴うと考えられる死亡例はマウスには認められず、また体重減少等も認められなかった。本実験において投与されたマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの量は  $1 \times 10^8$  PFU であり、virus particle (vp) 換算で約  $2 \times 10^9$  vp となる PFU:vp 比 1:20 として計算)。本遺伝子治療臨床研究においては  $1 \times 10^{10}$  vp から投与が開始される。ヒトとマウスにおける体重差 ( $60\text{kg} : 30\text{g} = 2000:1$ ) を考慮するとマウスに投与された量はヒトでは  $4 \times 10^{12}$  vp に相当し、ほぼ計画における最大用量に匹敵する。(追記: 現在米国で使用中的のアデノウイルスベクターの PFU:vp 比は 1:72 との報告がある。それをもとに換算すると  $1.4 \times 10^{13}$  vp となり計画の最大用量の約 3 倍に匹敵する)

#### 5) 血液生化学データ (肝機能) の変化

さらにマウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与後の安全性に関する検討として肝機能の変化を検討した。治療効果実験と同様にマウス同所移植前立腺癌モデルを用いて、種々の濃度の ( $5 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$ 、 $3 \times 10^8$  PFU) マウス IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍内投与した。尚、治療実験における至適用量は  $1 \times 10^8$  PFU である。ベクター投与 14 日後に屠殺し血液を採取し、種々の肝機能を測定した。その結果、代表的な肝機能の指標である ALT: Alanine aminotransferase AST: Aspartate aminotransferase は  $5 \times 10^7$ 、 $1 \times 10^8$  PFU 投与群においては肝機能は正常値内に保たれていた。 $3 \times 10^8$  PFU 投与群において上昇する傾向を認めたが統計学的有意差は認められなかった (表-1)。他のパラメーターである LDH、bilirubin, total protein, albumin における変化は認め

られなかった (表-2)。

表-1 (未発表データ)

	ALT (IU/L)	AST (IU/L)
Normal range	84 - 143	260 - 383
$\beta$ -gal $1 \times 10^8$	$38.7 \pm 42$	$372.7 \pm 163$
IL-12 $5 \times 10^7$	$40.2 \pm 54$	$300.5 \pm 443$
IL-12 $1 \times 10^8$	$44.3 \pm 49$	$209.5 \pm 194$
IL-12 $3 \times 10^8$	$472.4 \pm 1010$	$593 \pm 1066$

表-2 : 各種パラメーターの実測値 (未発表データ)

Mouse No.	Vector	Tumor wt.(g)	T.Bil (mg/ml)	D.Bil (mg/ml)	T.Pro g/dl	ALT U/L	AST U/L	ALP U/L	LDH U/L	ALB g/dl	Comment
589	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	4.6052	0.6	0.9	4.9	33	418	16	4990	2.5	hemolyzed
591	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	2.8099	0.3	0.3	5.2	30	566	14	3730	3	
595	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	1.5109									hemolyzed
596	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	3.1287	0.4	0.4	6.3	14	260	9	3780	3.4	
598	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	3.2742	0.6	0.9	4.6	122	550	10	5280	2.4	hemolyzed
197	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	1.9453	0.4	0.6	6.5	19	181	12	928	3.4	hemolyzed
600	$\beta$ -gal ( $1 \times 10^8$ )	3.4051	0.2	0.2	6	14	261	10	2250	3.3	
Average		2.95	0.42	0.55	5.58	38.67	372.67	11.83	3493.00	3.00	
STDEV		1.02	0.16	0.30	0.79	41.61	162.96	2.71	1655.12	0.45	
101	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	1.286	1	1.6	6.7	17	175	18	1216	3.4	hemolyzed
102	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	1.7764	0.3	0.3	6.1	19	164	12	924	2.9	
103	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	1.2887	1	1.4	5.8	149	1200	2	3560	3.1	hemolyzed
104	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	1.8754	0.2	0.3	5.4	9	90	12	397	2.8	
105	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	0.3206	0.4	0.5	6.5	20	45	63	220	3.6	
106	IL-12 ( $5 \times 10^7$ )	0.8937	0.3	0.3	6.1	27	129	23	505	3.2	
Average		1.24	0.53	0.73	6.10	40.17	300.50	21.67	1137.00	3.17	
STDEV		0.58	0.37	0.60	0.47	53.63	443.28	21.44	1241.81	0.30	
107	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	0.634	0.5	0.3	5.6	14	82	6	1910	2.2	
108	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	0.7376	0.2	0.2	6.2	23	110	27	419	2.6	
109	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	1.1288	0.5	0.4	6.5	62	361	14	3120	3	
110	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	1.4241	0.3	0.5	5.3	11	88	5	311	2.4	
111	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	0.4722	0.5	0.6	7	136	537	8	2380	2.7	
112	IL-12 ( $1 \times 10^8$ )	0.2451	0.2	0.3	7.2	20	79	52	374	2.9	
Average		0.77	0.37	0.38	6.30	44.33	209.50	18.67	1419.00	2.63	
STDEV		0.43	0.15	0.15	0.75	48.57	193.99	18.24	1214.72	0.30	
113	IL-12	0.6121	0.2	0.2	5.8	22	89	30	287	2.9	

114	(3x10 <sup>8</sup> ) IL-12	0.6775	0.2	0.2	6.7	16	150	11	655	2.9
115	(3x10 <sup>8</sup> ) IL-12	0.9136	0.3	0.2	6.5	22	128	24	459	3.4
116	(3x10 <sup>8</sup> ) IL-12	0.8873	0.6	0.8	7	2280	2500	19	9230	3.7 hemolyzed
118	(3x10 <sup>8</sup> ) IL-12	0.9191	0.2	0.1	5.8	22	98	2	294	2.2
Average		0.80	0.30	0.30	6.36	472.40	593.00	17.20	2185.00	3.02
STDEV		0.15	0.17	0.28	0.54	1010.48	1066.32	10.99	3941.14	0.57

### 6-3-4-3. 前立腺癌に対する IL-12 遺伝子治療臨床研究

上記の基礎研究結果を踏まえ、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床プロトコールは、2001年8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)の認可を受けた。2004年5月18日ベイラー医科大学において第1例目の前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行された。本臨床研究とベイラー医科大学で行われている IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究とのプロトコール比較表を以下に提示する

研究名	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)
実施症例	未実施	4 名(平成 19 年 6 月現在)
ベクターの種類	アデノウイルスベクター	
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室 (同一の構造、方法にて製造)	
遺伝子	Interleukin-12	
ベクター 投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp

対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B,C,D	B,C,D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準3人（最大6名） 標準21人（最大36名）	各レベル標準3人（最大5名） 標準21人（最大35名）
注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺	
治療としての位置付け	局所および全身治療		

ベイラー医科大学では2007年6月現在までに4例に対して実施されており重篤な副作用は発生していないとの情報を得ている。(注記1,2) 本臨床研究において用いるIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターはベイラー医科大学の臨床研究と同じく、同医科大学遺伝子ベクター室において作製されたものを用いる。

尚、ベイラー医科大学以外でも米国Mount Sinai School of Medicineで前立腺癌に対するIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療“Gene Therapy for Prostate Cancer That Returns After Radiation Therapy”が計画・承認されているが、いまだ症例の登録は行われていない。

(注記1) : 3年間で登録症例数が4例と少数である理由等について

ベイラー医科大学において先行して実施されたHSV-tk遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた臨床研究では放射線治療後の転移を有しない再発症例を対象とし約1年間(1996年8月28日から1997年8月14日)で18例登録され実施された。当初同様にIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究もベイラー医科大学においては放射線治療後の転移を有しない再発症例を対象とし前立腺局所投与の手法を採用し、研究を迅速に終了し、転移巣を有する症例を対象とした研究を別途計画する予定であった。しかし同時期に転移巣を有しない症例を対象とした凍結療法の研究が開始され、そちらに多くの患者がリクルートされたため、症例の登録が当初の予定通り進まなかったとの情報をトンプソン教授より得ている。

その後、臨床研究推進の対応として2006年6月22日ベイラー医科大学での前立腺癌遺伝子治療会議において表のごとく適応の拡大が認められ、有転移症例も対象となるとともに内分泌療法なら

びに凍結療法後の再発も対象となった。会議の資料を資料として添付する。(添付資料 12-9)

(注記 2) : 日米における注入部位の差について (ベイラー医科大学では前立腺局所投与のみとし  
転移巣、術後局所再発巣への注入が計画されていない理由)

ベイラー医科大学では 1996 年に遺伝子治療を実施して以来、放射線科との協力により放射線治療後の再発、放射線治療との併用における前立腺へのベクター投与を中心に研究を進めてきた経緯があり、内分泌療法後の再発、原発巣である前立腺が摘除された後の再発については当初より研究対象として想定していない。われわれは当初より有効な治療法が確立されていない内分泌療法再燃前立腺癌を遺伝子治療の対象として臨床研究ならびに基礎研究を推進しており、今回もそのような観点から当該臨床研究を立案した。

## 7. 安全性についての評価

### 7-1. 遺伝子導入方法の安全性

#### 7-1-1. 遺伝子導入に用いるアデノウイルスベクターの純度

本遺伝子治療臨床研究に用いるベクターの生産には、以下のマスターセルバンク、マスターウイルスバンクを用いた。以下のバンクは F D A のガイダンスに沿った管理試験項目の条件を満たしている。

詳細は以下に記載する。

#### 1) 293 Master Cell Bank

293 Master Cell Bank			
TEST	LABORATORY	SPECIFICATION	RESULT
In vitro assay for the presence of viral Contaminants	Magenta Corp	None detected	None detected
In vivo test for the presence of inapparent viruses	Magenta Corp	None detected	None detected
Transmission electron microscopic evaluation of cultured cells	Magenta Corp	Report result	No identifiable Virus-like Particles
Detection of human immunodeficiency virus (HIV) retrovirus by inoculation of human peripheral blood lymphocytes with the test article and detection of the presence of virus by an antigen capture ELISA technique	Magenta Corp	None detected	None detected
Cell culture identification and Characterization	Magenta Corp	Human	Human
Growth of mammalian cells in soft Agarose	Magenta Corp	Report result	No growth
In vitro assay for the	Magenta Corp	None detected	None detected

detection of cytomegalovirus contamination			
Detection of hepatitis B surface antigen (HbsAg) in cell culture	Magenta Corp	None detected	None detected
In vitro assay for the detection of EBV DNA in cells	Magenta Corp	None detected	None detected
Southern blot hybridization assay for the detection of adeno associated virus (AAV) DNA in the test article	Magenta Corp	None detected	None detected
Southern blot hybridization assay for the detection of human parvovirus B19 DNA in the test article	Magenta Corp	None detected	None detected
Polymerase chain reaction assay for the detection of human parvovirus B19 DNA in the test article	Magenta Corp	None detected	None detected
Polymerase chain reaction assay for the detection of human T-Cell lymphotropic virus in biological samples	Magenta Corp	None detected	None detected
Test for the presence of bacterial and fungal contaminants; sterility test using a direct inoculation method	Magenta Corp	Pass	Pass
Test for the presence of agar-cultivable and non-cultivable mycoplasmas	Magenta Corp	Pass	Pass
Human Herpes Virus 6 Variant A by PCR	ViroMed	Negative	Negative (08/04/00)
Human Herpes Virus 6 Variant B by PCR	ViroMed	Negative	Negative (08/03/00)
Human Immunodeficiency Virus HIV-1 DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/25/00)
Human Immunodeficiency Virus HIV-2 DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/21/00)
HTLV 1 and 2 DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/25/00)
Hepatitis C RNA by RT-PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/25/00)

2) Working Cell Bank

Working Cell Bank Lot 00400C293AMWCB (P5)			
TEST	LABORATORY	SPECIFICATION	RESULT
In vivo assay for viral contaminants- hen's eggs portion	ViroMed	Negative	Negative (09/08/00)
In vivo assay for viral contaminants- murine portion	ViroMed	Negative	Negative (09/07/00)
Adventitious virus in vitro	Texas Children's Hospital Pathology	Negative	Negative (04/12/00)

	Dept		
Hepatitis C RNA by RT-PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/25/00)
Human Herpes virus 6 Variant A DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (08/04/00)
Human Herpes virus 6 Variant B DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (08/03/00)
Human Immunodeficiency Virus HIV-1 DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/25/00)
Human Immunodeficiency Virus HIV-2 DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/21/00)
HTLV I and II DNA by PCR	ViroMed	Negative	Negative (07/21/00)
Sterility-bacterial	Texas Children's Hospital Pathology Dept	Negative	Negative (03/21/00)
Sterility-fungal	Texas Children's Hospital Pathology Dept	Negative	Negative (04/07/00)
Mycoplasma by PCR	CAGT QA/QC	Negative	Negative (05/03/00)
Mouse antibody production(MAP)	ViroMed	Negative	Negative (09/27/00)

### 3) Seed Vector

Seed Vector Lot B1870101			
TEST	LABORATORY	SPECIFICATION	RESULT
Sterility testing(Vector)	The Methodist Hospital Laboratory Services	(Bactec)	
Bacterial		Negative	Negative (10/22/01)
Fungal		Negative	Negative (11/09/01)
Mycoplasma polymerase chain reaction test(cells)	CAGT QA/QC	PCR negative	PCR negative (09/12/01)
Mycoplasma Culture Assay(cells)	The Methodist Hospital Laboratory Services	Negative	Negative (09/13/01)
Replication-competent Adenovirus	CAGT QA/QC	<1RCA/3 × 10 <sup>10</sup> vp	<1RCA/3 × 10 <sup>10</sup> vp (10/26/01)
Endotoxin(LAL)	CAGT QA/QC	<5.0EU/ml	<2.0 EU/ml (10/10/01)
Identity by PCR	CAGT QA/QC	590 base pairs	600 base pairs
Adenoviral	CAGT QA/QC	Report result	3.33 × 10 <sup>11</sup> iu/ml

titer(infectious units)			(10/15/01)
Virus concentration(viral particles by OD)	CAGT QA/QC	Report result	2.00 × 10 <sup>12</sup> vp/ml (10/03/01)
Particle to IU ratio	Calculated	≤30	6.06

4) Master Virus Bank

Master Virus Bank 02980101 Sublot # 5			
TEST	LABORATORY	SPECIFICATION	RESULT
Human Adeno-associated Virus 2 DNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (10/14/02)
Human Immunodeficiency Virus-1 RNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (08/07/02)
Human Immunodeficiency Virus-2 RNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (07/28/02)
Master Virus Bank 02980101 Sublot#5 Continued			
TEST	LABORATORY	SPECIFICATION	RESULT
Hepatitis-C RNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (07/29/02)
Hepatitis B DNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (08/05/02)
HTLV-1 RNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (08/07/02)
HTLV-2 RNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (08/07/02)
Adventitious Virus in vivo Murine portion Embryonated egg portion	AppTec	Negative Negative	Negative (02/13/03) Negative (02/13/03)
Adventitious Virus in vitro	Baylor/TCH Virology	Negative	Negative (07/29/02)
Cytomegalovirus by PCR	AppTec	Negative	Negative (11/14/02)
Parvovirus B19 by PCR	AppTec	Negative	Negative (08/01/02)
Epstein-Barr Virus DNA by PCR	AppTec	Negative	Negative (10/04/02)
Sterility Bacterial Fungal	The Methodist Hospital Laboratory Services	Negative@14 days  Negative@28 days	Negative (07/15/02) Negative (07/29/02)
Mycoplasma (Points to Consider)	BioReliance	Negative	Negative (08/26/02)
Endotoxin	CAGT QA/QC	<5.0EU/ml	<2.0EU/ml

(LAL)			(07/03/02)
Residual Cesium Chloride	West Coast Analytical Service	<5.0mg/ml	1.100 $\mu$ g/ml (05/02/03)
Titer(Infectious units)	CAGT QA/QC	Report result	$1.33 \times 10^{10}$ iu/ml (07/11/02)
Titer(Viral particles OD)	CAGT QA/QC	Report result	$9.68 \times 10^{11}$ vp/ml (07/31/02)
Particle to IU ratio	CAGT QA/QC	$\leq 80$	72.8
Replication competent adenovirus	CAGT QA/QC	$<1 \text{ RCA}/3 \times 10^{10}$ vp	$<1 \text{ RCA}/3 \times 10^{10}$ vp (04/17/01)
Identity by sequence	Larke Technologies	Identity Confirmed	Identity Confirmed (08/08/02)
Functionality	BCM Dept. of Urology	Expression of IL-12 by transfected cells	IL-12 secretion by transfected cells detected by ELISA (05/07/03)

IL-12 遺伝子発現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岡山大学遺伝子・細胞治療センターにおいて受け入れ試験を行う。具体的には、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 IL-12 の生物学的活性を確かめるため培養細胞への遺伝子導入時における IL-12 の産生能を検定する。

## 7-1-2. 増殖性ウイルス出現の可能性

非増殖性アデノウイルスベクターや腫瘍溶解性アデノウイルスベクターの臨床使用経験の蓄積やベクター製造・分析技術の進歩等に伴って RCA に関する見解も変化している。RCA に関しては日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use ; ICH) Gene Therapy Discussion Group (ICH-GTDG) において情報交換、意見交換が行われ見解・声明および活動状況が communication paper として公開されている。日本の当局代表としては国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部が参加している。

アデノウイルスベクターの大量製造過程でベクターのゲノムが 293 細胞に組み込まれている E1 遺伝子領域に近接し、相同組み換えが起きることがあり、その結果、現在のアデノウイルスベクター生産の技術では、ある程度の確率で RCA が生じてしまうことは避けられないと考えられている。現在、FDA では RCA 量の許容限度は「 $3 \times 10^{10}$  ウイルス粒子あたり 1 個未満」であることを推奨している。日本では、FDA の推奨値を参考としながら、RCA が混入している場合に想定されるリスクをケースバイケースの原則で評価した上で、個別に許容限度を設定している。(ICH-GTDC 会議における RCA に関する見解：2004 年 6 月 10 日)

当該遺伝子治療臨床研究で使用されるアデノウイルスベクターは現在ベイラー医科大学で作製されており、「 $3 \times 10^{10}$  ウイルス粒子あたり 1 個未満」であるという条件を満たしたものが使用される。尚、現在ベイラー医科大学で進行中の IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを使用した前立腺癌に対する臨床研究(平成 13 年 8 月 FDA 承認、平成 16 年 5 月治療開始)に使用されているアデノウイルスベクターは titer は  $9.68 \times 10^{11}$  vp/ml であり、おもに 1 バイアルあたり  $1 \times 10^{11}$  vp に調製して保管されており「 $3 \times 10^{10}$  ウイルス粒子あたり 1 個未満」であるという条件を満たしている(平成 15 年 9 月最終製品リリース)。

また 2004 年 6 月 10 日の ICH-GTDG 会議では多量の RCA を含有する非増殖性アデノウイルスベクターを高用量投与された症例に関するデータが米国研究製薬工業協会 (PhRMA) によりとりまとめられ、がん患者において、RCA に起因する重篤な副作用はみられず、RCA の対外への排出も認められなかった

ということが報告されている。さらにアデノウイルスベクター製品の各ロットに RCA が高レベルで混入することは認めないという点について、ICH 各極は合意に至っている。

(ICH-GTDG 会議の見解 日本語訳より抜粋：国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部 仮訳)

### 7-1-3. 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性

#### 1) 動物実験の結果

アデノウイルスベクターを腫瘍内投与した場合の腫瘍周囲及び全身の他臓器への偶発的遺伝子導入の可能性を調べるために、ヒト前立腺への至適投与量( $1.0 \times 10^{10}$ PFU: ベイラー医科大学での HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター臨床研究より)の 0.5 倍から 50 倍(体重換算)に相当するベクター量をマウス前立腺に投与し、その広がりを解析する動物実験がベイラー医科大学で実施された<sup>24)</sup>。その結果、前立腺部においては容易にベクター DNA が検出され、解剖学的に隣接する臓器である精囊、リンパ節(骨盤部)、肝臓、腸管への広がりが認められた。尿、精囊液、精子、肺への広がりは全く認められなかった。精巣においては高濃度注入群において 1 匹に認められた。血液においては低濃度において 1 匹にのみ認められた。マウスにおいては、アデノウイルスベクターの注入側からの広がりは解剖学的に隣接する臓器にのみ主に認められ、全身的な広がりを示唆する所見はなかった。またアデノウイルスベクターの投与によるマウスの死亡は認めなかった。この動物実験は条件上、マウス前立腺体積の約 3 分の 1 に相当する容積のベクター液を注入する実験であり一部は周囲に漏出したと考えられるが、ヒトの場合は 30 分の 1 又は 15 分の 1 に相当する容積を注入するため(ヒト前立腺 30ml、注入ベクター量 1ml 又は 2ml)漏出の可能性は極めて低いと考えられる。本遺伝子治療臨床研究は IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターではなく Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた実験結果であるが、ウイルス学的に同一構造を有するアデノウイルスベクターであり、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターについても同様の結果であることが予想される。岡山大学泌尿器科において実施された臨床研究(研究課題名:前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルス

ベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究)において治療直後から7日間において尿中ならびに血液中のアデノウイルス量をPCR法にて確認したが、血液中へのアデノウイルスベクターの存在は9例中8例においては認めておらず、投与後90分まで存在し翌日には消失した症例を1例認めた。本臨床研究においても、治療直後からの尿中ならびに血液中のアデノウイルスベクターの存在をモニタリングし、安全性の確認を行う。

#### 7-1-4. 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性

IL-12 遺伝子発現アデノウイルス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、治療後、尿中ならびに血液中のアデノウイルスベクターの存在がないことを確認するまで個室管理とし、治療中はマスクや予防衣の着用など注意を払う。

#### 7-1-5. 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、IL-12 によるタンパク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。

#### 7-1-6. 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、哺乳類の細胞をトランスフォームさせる機能をもち、げっ歯類における癌化に関与しているとされるE1領域をIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターにおいては欠損させてあり、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。

#### 7-1-7. アデノウイルスベクターの投与によって生じた重篤な副作用について

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  $3 \times 10^{13}$  particle を接種された患者が死亡し、 $3 \times 10^{12}$  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。

一方、米国ベイラー医科大学で行われた試験においては  $1 \times 10^{11}$  PFU の投与量において 1 例ではあるが、肝機能障害が生じている<sup>25)</sup>。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。臨床的に問題となりうるのは前立腺周囲の静脈叢への直接穿刺であると考えられる。ベクター投与に際して注入針の先端が確実に前立腺組織内にある場合には大きな問題ではないかもしれない。しかし、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。

われわれは、ベイラー医科大学での adverse event に関する結果等を考慮し、前立腺内への確実な注入を目指したリアルタイム・バイプレーン式超音波ガイド下穿刺装置（アロカ社製）ならびに専用の微量注入装置（根本杏林堂社製）を使用する。先行して実施した HSV-TK 発現アデノウイルスベクターを用いた前立腺癌遺伝子治療臨床研究においてわれわれはすでに当該注入システムを使用し安全に注入を実施した実績がある。その際、血液中へのアデノウイルスベクターの拡散について検討したが  $1 \times 10^{10}$  PFU 投与した 6 例中 3 例において前立腺癌注入直後に血液中への移行を認めたが翌日には検出されていない。また血液移行に起因したと想定できる副作用は生じていない。当該研究に用いられるアデノウイルスベクターの最高用量は  $5 \times 10^{12}$  vp 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、採用する注入システムを考慮に入れると安全性は確保されていると推察される。

## 7-2. 遺伝子産物の安全性

IL-12 発現アデノウイルスベクターの遺伝子産物である IL-12 タンパク (recombinant human IL12 : 以下 rhIL-12) の安全性について現在までの知見を概説する。特に、rhIL-12 の全身投与 (静脈内投与) における第 2 相試験において副作用による死亡例が出現し試験が中止されており、この事象と本臨床研究との関連性について安全性の確保という観点から詳細に述べる。

### 7-2-1. ヒトに対する安全性に関する従来知見について

#### 1) rhIL-12 の静脈内投与における安全性について

種々の癌を対象に rhIL-12 の薬剤としての第 1 相試験が 1995 年米国ボストンで実施された<sup>26)</sup>。治療スケジュールは 5 日間連続 1 日 1 回の静脈内投与を 3 週間ごとに 2 回繰り返すもので、投与量は 3 ng/kg/day から 1000ng/kg/day という dose escalating study である。被験者は連続投与開始 2 週間前にテストとして投与予定量の rhIL-12 の静脈内投与を 1 回受け、問題がない場合連続投与を実施した。評価可能症例は 32 例であり、投与制限毒性(dose limiting toxicities:DLT)として grade 3 の血清トランスアミナーゼの上昇、grade 3 の口内炎が最高投与量である 1000ng/kg/day において出現した。そこで最大耐用量(maximum tolerable dose:MTD)を 500 ng/kg/day とした。他の毒性としては発熱が 10ng/kg/day 投与例から出現し、以後のほとんどの症例に認められた。発熱は投与 8-12 時間後に出現し、自然軽快した。貧血、白血球減少、リンパ球減少、血小板減少、高脂血症が投与 5 日目に出現したが、特に処置を必要とせず軽快した。血清中の IL-12 の濃度は 500ng/kg/day 投与例においては 11, 136.8 +/- 3, 529.8 pg/ml、1000ng/kg/day 投与例においては 19, 575 +/- 5, 269 pg/ml であった。血清中のインターフェロン $\gamma$ の濃度は用量依存的に上昇し、1000ng/kg/day 投与例においては投与 24 時間後 1000pg/ml であった。32 例中 2 例に治療効果が認められたが、最大耐用量投与群において治療効果は認められなかった。

上記試験結果を基に同一の施設において第 2 相試験が開始された<sup>9)</sup>。投与量は、第 1 相試験の最大耐用量の 500 ng/kg/day とし、5 日間連続 1 日 1 回の静脈内投与を 3 週間ごとに 2 回繰り返すスケジュールとした。しかし第 1 相試験との最大の相違点は連続投与開始前にテスト投与を実施しな

かったことである。第2相試験における毒性は第1相試験において出現した毒性と内容は同様のものではあったが、その程度はかなり重症であった。治療を受けた17例中12例の患者において入院治療が必要な毒性が発生し、そのうち1例が死亡した。死亡例の1例は大腸における潰瘍からの出血が原因であり、もう1例は多臓器不全、壊死性肺炎、瀰漫性出血性大腸炎により死亡した。血清中のインターフェロン $\gamma$ の濃度は第1相試験における濃度に比しかなり高く、投与4日目でそれぞれ26,000 pg/ml (第2相試験)、6,000 pg/ml (第1相試験)であった。種々の詳細な検討の結果、5日間の連続投与の2週間前に実施されたテスト投与は連続投与による毒性の出現の予防、毒性の軽減に効果があることが示唆された<sup>9)</sup>。さらにマウスおよびサルの実験においてこのことは実証された。またマウスの実験において副腎皮質ホルモンであるデキサメサゾンの前投与によりIL-12の副作用発現が部分的に予防されることも明らかにされた<sup>27)</sup>。

## 2) rhIL-12 の皮下投与における安全性について

悪性腫瘍<sup>10)、11)、12)</sup>ならびにC型肝炎<sup>13)</sup>を対象に試験が実施されておりその概要を述べる。rhIL-12の皮下投与による第1相試験は進行腎細胞癌を対象に、1週間1回の3週連続投与を28日ごとに繰り返すサイクルを2サイクル行うスケジュールで実施された<sup>10)</sup>。投与量としては100から1000ng/kgを投与するdose escalating studyとして実施された。500ng/kgの投与群において再発性大腸炎の既往のある患者1名にgrade4の消化器系毒性が発生した。血便を伴い内視鏡的に汎大腸炎と診断されたが副腎皮質ホルモンの投与により改善した。1000ng/kg投与群(6例)においてgrade3の血清トランスアミナーゼ上昇(1/6)、grade4の肺毒性(1/6)、grade3の白血球減少が発生し、血清のIL-12、インターフェロン $\gamma$ の最高濃度はそれぞれ1,092 pg/ml、250 pg/mlであった。1例に認められたGrade4の肺毒性は発熱を伴った呼吸切迫で自然軽快したが、明らかな原因は不明であった。

悪性黒色腫を対象としたrhIL-12皮下投与試験は、500ng/kgを1週間1回の3週連続投与で28日ごとに繰り返すサイクルを2サイクル行うスケジュールで実施された<sup>11)</sup>。一過性の血清トランスアミナーゼの上昇(grade1, 10名中6名)、トリグリセライドの上昇(grade1, 10名中8名)、全例における感冒様症状が認められた。血清IL-12の平均ピーク値は250+/-122 pg/mlであり、初回投

与 8-12 時間後にピークに達し、24-30 時間後に測定感度以下に低下する。しかしそのピーク値も 3 回目の投与になると測定感度以下もしくはごくわずかに検出されるのみであり、連続投与による生体の適応化の存在が示唆された。

次に、皮膚 T 細胞性リンパ腫 10 例を対象に rhIL-12 皮下投与臨床試験が実施された<sup>12)</sup>。50~300 ng/kg を週 2 回 24 週皮下投与するスケジュールで実施された。副作用は軽度の発熱、頭痛であり限られた症例においてのみ認められた。評価可能症例 9 例中 5 例において完全もしくは部分寛解が認められた。有効例における局所の所見としては CD8 陽性リンパ球の有意な浸潤が認められた。しかし血清の IL-12、インターフェロン $\gamma$  濃度測定の結果は報告されていない。

また、慢性 C 型肝炎を対象とした rhIL-12 皮下投与の臨床試験結果が報告されている<sup>13)</sup>。投与量は 30 から 500 ng/kg を 12 週間投与するスケジュールである。一過性の好中球、リンパ球減少、血清トランスアミナーゼ、ビリルビンの上昇が認められた。もっとも頻度の高い副作用は、発熱、倦怠感、頭痛、悪寒、筋肉痛、めまい、咳、鼻炎でありその頻度は用量依存性であった。46 名

中 3 名の患者が有害事象 (ALT の上昇、口腔内潰瘍、心房細動) にて試験より脱落した。ALT 上昇例においては明らかな因果関係を認めている。高用量投与例において血清中のインターフェロン $\gamma$  がわずかに検出可能であった。

### 3) rhIL-12 体腔内投与における安全性について

膀胱内投与<sup>28)</sup>、腹腔内投与<sup>29)</sup>に関する第 1 相試験の報告がある。

表在性膀胱癌を対象に 5-200  $\mu$ g を 50ml の生理食塩水に溶解し、週 1 回計 6 回膀胱内に注入した。把持時間は 2 時間とした。1 例において軽度の倦怠感が出現したのみで他の副作用は出現しなかった。血清ならびに尿中のインターフェロン $\gamma$  は検出されなかった<sup>28)</sup>。

癌性腹膜炎を対象に 3-300ng/kg を、週 1 回計 8 回腹腔内に投与した<sup>29)</sup>。100 ng/kg 投与時点において、grade 1-2 の血球減少症が認められ、腹水中のインターフェロン $\gamma$  レベルの上昇を認めた。

### 4) IL-12 遺伝子発現ベクターを用いた遺伝子治療における安全性について

本臨床研究に用いるアデノウイルスベクターではなく、レトロウイルスベクターを用いた第 1 相臨床研究が実施されている<sup>30)</sup>。本研究は IL-12 遺伝子発現レトロウイルスベクターを用いて体外に

において遺伝子導入された自己の線維芽細胞を腫瘍内に投与する手法をとっている。これらの細胞は24時間当たり10～30,000 ngのrhIL-12を産生する。本試験において副作用はまったく出現せず、血清のIL-12レベルは5pg/ml以下であった。腫瘍の50%以上の縮小を6例中2例に認めた。さらに、自己の悪性黒色腫細胞にプラスミドを用いてIL-12を遺伝子導入しIL-12産生細胞を調製し、ワクチンとして皮下投与するという手法を用いた研究が実施された<sup>31)</sup>。本研究においては軽度の発熱を認めたのみで重篤な副作用は出現しなかった。2例において自己の腫瘍細胞に対する遅延型皮膚反応を認め、一例に若干の腫瘍縮小効果を認めた。しかし血清のIL-12、インターフェロン $\gamma$ 濃度測定の結果は報告されていない。

本臨床研究と同様にIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については進行消化器癌を対象とした第1相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認された。特に $2.5 \times 10^{10}$ VPから $3 \times 10^{12}$ VPまでの7つのコホートからなるdose escalating試験であったがdose limiting toxicityが出現する用量にまでは達しなかった。主な副作用は発熱、倦怠感、発汗、リンパ球減少であったがいずれも一過性であった。血清のIL-12、インターフェロン $\gamma$ 濃度は測定されており、IL-12の有意な上昇は認めなかったが、インターフェロン $\gamma$ については翌日にそのピークを用量性に認めた(40-120pg/mlであり、IL-12蛋白:rhIL-12の1000ng/kg/day静脈内投与例における投与24時間後1000pg/ml、IL-12蛋白:rhIL-12の皮下投与における最高濃度250 pg/mlより低濃度であった)。また21例中1例に部分寛解(PR:partial response)10例に病状の安定化(SD:stable disease)を認め有効症例が確認されている<sup>32)</sup>。

## 5) まとめ

これまでの種々の臨床研究から判明したことは、rhIL-12の投与の手法が副作用発現およびその重篤度に有意に関連していることである。すなわち投与量、投与スケジュール、投与ルート(静脈内、皮下、体腔内)により大きな差がある。静脈内への5日間連続投与で、しかもテスト投与を省略した場合がもっとも毒性が強く発現し、そのことは血清中のIL-12、インターフェロン $\gamma$ 濃度の著明な上昇と相関している。体腔内もしくは局所投与(皮下、IL-12産生細胞の腫瘍内投与)では

毒性が低く、血清の IL-12、インターフェロン $\gamma$ 濃度も低いと結論付けられる。

#### 7-2-2. IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与のヒトにおける安全性について

IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的にて種々の動物実験が実施されている<sup>17) 24)</sup>。本遺伝子治療臨床研究に用いられる IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターについては 2001 年 8 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、2004 年 5 月 18 日ベイラー医科大学において第 1 例目の前立腺癌に対する IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行された。2007 年 6 月現在までに 4 症例に投与が行われているが、有害事象については報告されていない(未公表データ)。

また、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた本遺伝子治療においては、経直腸的超音波を使用し、超音波によって癌病変部を直視しながらベクターを局所へ注入する手法、または転移巣病変に対しても、超音波または CT にて病変部を確認し、転移巣病変内に注入する手法を用いており、局所において導入された遺伝子より IL12 蛋白が発現し、一連の治療効果が誘導されることを企図している。したがって、投与方法としては局所投与に位置付けられるものであり、安全性に関しては rhIL-12 の局所投与と類似して検討することが妥当と考える。さらに、上述の IL-12 遺伝子発現レトロウイルスベクターおよび先行してベイラー医科大学で実施されている IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた研究の結果が参考になると考えられ、静脈内投与において認められたごとき重篤な副作用発現の可能性は低いと予想される。

#### 8. 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

内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌ならびに内分泌療法抵抗性転移性再燃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る。適切な説明に基づく被検者の同意(インフォームドコンセント)が確実に確保され、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その品質、有効性および安全性が確認され、当該遺伝子治療臨床研究そのものが有効かつ

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場合に限り倫理的に許容されると考えられる。培養前立腺癌細胞ならびに動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた際の抗腫瘍効果および安全性は確認されており<sup>17)</sup>、臨床研究プロトコールは、先行してベイラー医科大学において立案され2001年8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、2004年5月18日ベイラー医科大学において第1例目の前立腺癌に対するIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行された。今回用いる予定であるIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、ベイラー医科大学遺伝子ベクター室において作製され、安全性試験を通過した製品として、ベイラー医科大学より供給を受ける。すなわち本ベクターは米国の臨床試験で用いられるものと同じである。また、研究者の那須保友は、ベイラー医科大学泌尿器科にてIL-12 遺伝子発現アデノウイルス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立案から直接関与し、以後継続的に岡山大学よりベイラー医科大学に研究員を派遣している。一方、岡山大学ではすでに前立腺癌・肺癌に対する遺伝子治療臨床研究が所定の審査を通過し、既に研究が実施され終了している(肺癌:非小細胞肺癌に対する正常型p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究、前立腺癌:前立腺癌に対するHerpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究)。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、CT室)およびそれらの運用を含めて、すでに整備され経験豊富なスタッフを擁しており、病院側の受け入れ体制は整備されている。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。また平成15年度からは遺伝子治療を代表とする一連のトランスレーショナル・リサーチの推進を目的として岡山大学医学部・歯学部附属病院内に遺伝子・細胞治療センターが設置され稼動しており、本遺伝子治療臨床研究も同センターの活動の一環として実施される予定である。

こういった背景から、今回申請する遺伝子治療臨床研究を岡山大学医学部・歯学部附属病院で実施することは十分可能であると判断した。

## 9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

### 9-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

本遺伝子治療臨床研究の適応が予測される患者について、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第1回目）を行い、同意が得られた場合に限り、本臨床研究へエンロール（患者登録）し治療前検査を開始する。治療前検査にて後述する選択基準に合致、さらに除外基準に抵触しないことが明らかになった場合、治療前検査データを基に院内の遺伝子治療臨床研究審査委員会の下に設置された安全・効果評価・適応判定部会にて適応を評価する。安全・効果評価・適応判定部会で本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学医学部・歯学部附属病院にて患者ならびに家族（あるいは親族）に対し、文書によるインフォームド・コンセント（第2回目）を行う。同意が得られた場合に限り、以下の方法によって本臨床研究を実施する。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は投与を継続するが（注記1）、抗アンドロゲン剤の投与を受けている場合には投与を中止し抗アンドロゲン剤除去症候群を認めないことを確認したのちに患者登録を行う（注記2）。IL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による副作用の評価、治療効果、及びIL-12遺伝子発現アデノウイルスベクターの最大耐量（定義：最大の効果を認めかつ最小の副作用を示す用量）を推定するために、投与量を $1.0 \times 10^{10}$ vp(viral particle)から開始して2ないし5倍ずつ増量し $5.0 \times 10^{10}$ vp,  $1.0 \times 10^{11}$ vp,  $5.0 \times 10^{11}$ vp,  $1.0 \times 10^{12}$ vp,  $5.0 \times 10^{12}$ vpに至る6レベルの治療群を設定する。各用量レベルでそれぞれ3人の被験者を評価し、有害事象が発生しなければ逐次用量レベルの上昇を行う。ただし有害事象が発生した場合はその重篤度を評価し、プロトコールにのっとり症例数を追加し同一用量で検討するか、試験を中止するかを判断する。最大耐量(Maximum Tolerated Dose, MTD)では3人に投与して問題なければさらに3人、計6人の被験者で評価する。つまり、各用量レベルでの安全性の検討（最大耐量の推定）を行った後、治療効果の観察も行うことを目的とする第I/II相試験として計画した。遺伝子治療終了後、評価基準に従って安全性ならびに治療効果を評価する。

(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<sup>18)</sup>ら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ならびに患者への不利益を最小限に抑える目的から、内分泌療法を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、カゾデックス）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。

## 9-2. 被験者の選択基準及び除外基準

内分泌療法抵抗性再燃前立腺癌を対象とし以下のカテゴリーと合致し 9-2-1. に記載された選択基準を満たすものを被験者とする。

### ①. 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌：(非転移症例)

外科的切除により根治不能な局所的に進行した前立腺癌症例で、内分泌療法（放射線療法、抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌と診断され、かつ臨床的に遠隔転移を認めない患者。

②. 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌：

②-1 前立腺全摘出手術未施行例

前立腺癌診断時、既に臨床的に遠隔転移を有する進行前立腺癌症例で内分泌療法（抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断された患者。

②-2 前立腺全摘出手術施行例

根治的前立腺全摘術後に局所ないし遠隔転移（軟部組織を含む）にて再発した前立腺癌症例で、内分泌療法（抗癌化学療法の併用を含む）の経過中に、PSA を用いた生化学診断上、内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌と診断され、かつ再燃時に組織学的に転移が確認された患者。

9-2-1. 選択基準

- 1) 被験者は 20 歳以上の成人としその年齢に上限を設けませんが、医学的に本臨床研究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) 内分泌治療を施行中であること。（注記 2）
- 3) 血中テストステロンが 1 ng/ml 以下の症例。
- 4) 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、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局所再燃癌。被験者登録時から 3 回前に測定した数値からの 3 回連続上昇となる。（注記 3）
- 5) 前治療の影響がないと考えられる症例。
- 6) 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。
- 7) 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  $>2000/\text{mm}^3$ 、血小板数  $>100,000/\text{mm}^3$ 、総ビリルビン  $<1.5\text{mg/dl}$ 、クレアチニン  $<1.5\text{mg/dl}$ 。

（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) 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 9-1 の注記1を参照。

(注記3) 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。

5)、6)、7) 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。

#### 9-2-2. 除外基準

症例の選択に際し、次の項目に該当する被験者は本臨床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) 本臨床研究参加6ヶ月以内に未承認薬の臨床試験（治験も含む）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) 当該臨床研究にいったん参加し何らかの理由で投与を終了した場合（重複登録の禁止）
- 5) その他、担当医が不相当と認める場合。

#### 設定の根拠

- 1)、3)は安全性配慮のため設定した。
- 2)は安全性評価また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

#### 9-3. 被験者の同意の取得方法

内分泌抵抗性前立腺癌の病態と従来の治療法に対し抵抗性であること、本臨床研究の理論的背景と動物実験成績、安全性に関する成績に関して十分な説明を患者本人ならびに家族（あるいは

親族) もしくは立会人 (患者に家族ならびに親族がいない場合、患者の親しい間柄の人を同席させたいという希望が患者からあった場合) に対して行い、十分な理解を得た上で自由な意思によって本臨床研究の被験者となることについて文書に基づいて同意を得る。同意の取得は患者登録時、および全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応有り と判定した後の計 2 回行う。また、同意に関連する新たな重要な情報を入手した場合は、その情報を被験者ならびに家族 (あるいは親族) に伝え、継続して参加するか否かについて被験者の意思を確認する。

#### 9-4. 実施期間及び目標症例数

本臨床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 21 例とするが、各用量レベルでの副作用の出現の有無によって最大 36 例とする (「9-5-1. 対象群及び治療群の設定」、 「9-5-5. 予測される副作用及びその対処方法」 参照)。

#### 9-5. 遺伝子治療臨床研究の実施方法 (治療計画)

##### 9-5-1. 対象群及び治療群の設定

1) IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与による副作用の評価、治療効果、及び IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの最大耐量の決定のために 1 群 6 レベルを以下に示すごとく設定する。

	IL-12 アデノウイルスベクター
レベル 1	1.0x10 <sup>10</sup> vp (viral particle)
レベル 2	5.0x10 <sup>10</sup> vp
レベル 3	1.0x10 <sup>11</sup> vp
レベル 4	5.0x10 <sup>11</sup> vp
レベル 5	1.0x10 <sup>12</sup> vp
レベル 6	5.0x10 <sup>12</sup> vp

2) それぞれの用量レベルでそれぞれ 3 人の被験者を評価し、最大耐量 (Maximum Tolerable Dose, MTD)

（「9-5-5. 副作用の判定基準」参照）では6人の被験者を評価する。各用量レベルが終了すれば、逐次用量レベルの上昇を行う。ステージアップの適応評価については各ステージ終了後に安全・効果評価・適応判定部会を開催することとし、当該ステージの最終症例における3回目投与28日以降に開催し全ての症例について3回目投与28日後までのデータを基に総合評価する。安全であると判定された後、次のステージを開始する。「安全・効果評価・適応判定部会」での判定結果については、会議毎に結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、その写しを遺伝子治療臨床研究審査委員会に意見として報告する。規定にのっとり委員長は審査または調査を行い終了後速やかにその結果を岡山大学医学部・歯学部附属病院長に報告する。岡山大学医学部・歯学部附属病院長は委員長の報告を受けて通知書を作成し、委員会の記録の写しとともに総括責任者に提出する。通知の写しは必要に応じ適宜所轄官庁に提出する。（指針第四章第四の規定に基づき）

## 9-5-2. 遺伝子導入方法と導入回数

### 9-5-2-1. 遺伝子導入方法

#### ① 内分泌療法抵抗性局所再燃前立腺癌（非転移症例）

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用いIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を1ないし2ヵ所（最大2ヵ所）に注入する。アデノウイルスベクター液は1ヵ所につき1mlとする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後3日間の抗生剤投与を行う。

#### ② 内分泌療法抵抗性転移性再燃前立腺癌（有転移症例）

##### ②-1. 前立腺全摘出手術未施行例

岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟3階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用い病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い

IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1 ないし 2 ヶ所（最大 2 ヶ所）に注入する。アデノウイルスベクター液は 1 ヶ所につき 1 ml とする。注入そのものにより前立腺部の一過性の腫大を来し、尿閉を生じることがまれにあるため、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

## ②-2. 前立腺全摘出手術施行例

局所再発腫瘍に対しては岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて、原則として腰椎麻酔を施行し、経直腸的超音波を用いて病変部を確認した後、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を 1-2 ヶ所(最大 2 ヶ所)に注入する。アデノウイルスベクター液は 1 ヶ所につき 1 ml とする。尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

転移性腫瘍に対しては、超音波下で投与する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて原則として局所麻酔を施行し、その超音波に装着された穿刺用ガイド装置を用い IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を注入する。CT ガイド下で注入する場合は岡山大学医学部・歯学部附属病院中央放射線部 CT 室にて局所麻酔を施行し、CT ガイド下にアデノウイルスベクターを注入する。治療後 3 日間の抗生剤投与を行う。

### 9-5-2-1. 遺伝子回数

その後、プロトコールを遵守して安全性ならびに治療効果の評価を行う。重篤な副作用を認めない場合は 28 日毎に 3 回の治療を実施する。3 回目の治療を終了した 28 日後に、臨床症状、検査結果および病変部の総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行う。

#### 【追加投与について】

総合評価にて安全性が確認されるとともに悪化傾向を認めず(PD:Progressive Disease でなく)、追加投与について患者の希望があり了解が得られた場合、担当医師および総括責任者は 12 週時点の総合評価を含めた治療中、治療後に集積されたデータを含めて、追加投与申請書を安全・効果評価・適応判定部会に提出する。部会において追加投与に関する適格性を科学的、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する。投与回数の上限は設定しないが、

「治療中止の判定基準」を満たす場合には投与を中止する。また投与を継続する場合は、初回と同様に3回目毎に治療を終了した28日後に総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価する。追加投与の際には用量の変更は行わない。

また追加投与に関する説明と同意書は、本計画書に添付資料12-4（前立腺がん遺伝子治療臨床研究、継続投与のための説明と同意書）として含まれている書式である。

### 9-5-3. 前処置及び併用療法の有無

#### 9-5-3-1. 前立腺癌の治療に関して

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は、LH-RHアゴニストの投与を継続する。前立腺癌に対する他の治療法については遺伝子治療実施28日以上前に中止する。

#### 9-5-3-2. アデノウイルスベクター注入に関して

前立腺ならびに前立腺摘出部局所再発腫瘍部に注入する際は、原則として腰椎麻酔下にて実施するため、腰椎麻酔に必要な前処置を実施する。注入後はバルーンカテーテルを膀胱内に留置し感染予防のための抗生剤投与を治療後3日間実施する。バルーンカテーテルは翌日抜去する。リンパ節、骨などの転移部位に注入する場合は原則として局所麻酔下にて実施し抗生剤投与を治療後3日間実施する。

### 9-5-4. 臨床検査項目及び観察項目

本臨床研究における安全性の判定、有害事象の予見、効果判定のために、以下の各種検査を実施する。検査時期の概略については以下に示すが詳細は添付資料12-5に示す。

#### <治療効果判定に関する検査>

##### 1) 腫瘍マーカー

PSA

##### 2) 画像検査

経直腸の超音波検査、骨シンチ、骨転移部の MRI、前立腺部 MRI、腹部・骨盤部 CT

### 3) 免疫学的検査

当該臨床研究においては腫瘍免疫を中心とした免疫学的反応の検討（局所および全身反応の解析）は副次エンドポイントの一つであり以下の解析を実施する。

#### \*血液中リンパ球サブセット：

【項目】CD45/CD14（リンパ球領域から赤血球および単球を除外するためのゲーティングコントロール）、CD3/CD19（T 細胞 B 細胞）、CD3/CD8（T 細胞および細胞障害性 T 細胞サブセット）、CD3/CD4（T 細胞およびインデューサー/ヘルパー T 細胞サブセット）、CD8/HLA-DR（活性化細胞障害性 T 細胞）、CD4/HLA-DR（活性化インデューサー/ヘルパー T 細胞）、CD3/HLA-DR（休止期 T 細胞、B 細胞、活性化 T 細胞）、CD3/CD56+CD16（T 細胞（CD3+）および NK 細胞）、CD3/CD11b（マクロファージ）、CD25（調節性 T 細胞）

【実施時期】治療前、投与後 1 日目、2 日目、3 日目、5 日目、7 日目、14 日目、28 日目  
（アデノウイルスベクターの投与は 28 日毎に実施されるので上記サイクルを繰り返し実施する）

#### 【解析方法】

- ① ヘパリンにてコーティングされた 5ml の注射器を用いて、4.5ml の血液を採取
- ② 抗体を含まない血液のみのコントロール、および 2 種の異なる蛍光色素でラベルされた上記抗体の組み合わせを用いる。各血液検体 100 $\mu$ l とそれぞれの抗体各 20 $\mu$ l を、室温かつ遮光した状態で 30 分インキュベートする。
- ③ Coulter Q-Prep を用いて赤血球を除去し固定する。A液 635 $\mu$ l：（ギ酸）、B液 265 $\mu$ l：（炭酸ナトリウム、塩化ナトリウム、硫酸ナトリウム）、C液 100 $\mu$ l：（パラホルムアルデヒド）。
- ④ FACS 解析を行う（1 アッセイにつき、10,000 細胞以上）。

#### \*血清サイトカイン

【項目】IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12

【実施時期】治療前、投与後 1 日目、2 日目、3 日目、5 日目、7 日目、14 日目、28 日目

(アデノウイルスベクターの投与は 28 日毎に実施されるので上記サイクルを繰り返し実施する)

**【解析方法】**

- ① 5 ml の注射器にて 5ml の血液を採取
- ② 2000 x g、15 分、4℃で遠心分離後、0.5ml の血清を分離し、-80℃で保存
- ③ IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-12 を ELISA 法にて測定

**\* 細胞障害性試験による NK 細胞の機能解析**

**【実施時期】** 治療前、投与後 7 日目、14 日目、28 日目

アデノウイルスベクターの投与は 28 日毎に実施されるので上記サイクルを繰り返し実施する

**【解析方法】**

- ① ヘパリンにてコーティングされた 20ml の注射器を用いて、20ml の血液を採取、室温で、400 x g で 10 分間遠心分離し上清の血漿を取り除き、PBS を加えてトータル 20ml にする。さらに 15ml の Ficoll-Paque 液 (Pharmacia 社) を加え、400 x g で 30 分間、室温で遠心分離する。3 層に分かれた中層の PBMC 分画より PBMC を含む液を分離し、PBS で 2 回洗浄し、PBMC として使用する。
- ② PBMC の細胞数を測定し、<sup>51</sup>Cr で標識された標的細胞 (K562) とエフェクター細胞/標的細胞 (E/T) 比、100 : 1、50 : 1、25 : 1、12.5 : 1 で混合培養する。
- ③ 4 時間後、上清に放出される放射活性を  $\gamma$  線カウンターで測定する。

ポジティブコントロールである最大放出は target cell 浮遊液に 1N 塩酸を加えたものとし、ネガティブコントロールである自然放出は target cell だけの浮遊液の測定をするものとする。また下記の計算式により、細胞傷害活性を算出する。

$$(\text{共培養での放出} - \text{自然放出}) / (\text{最大放出} - \text{自然放出}) = \text{細胞傷害活性} (\% \text{ lysis})$$

**\*血清CTL誘導ペプチドに対する特異的IgG抗体<sup>33)</sup>**

**【実施時期】** 治療開始前、ならびにベクタ投与 4 週後で次回のベクター投与直前

(アデノウイルスベクターの投与は4週毎に実施されるので上記サイクルを繰り返し実施する)  
 治療開始前に HLA-A のタイピングを実施し使用するペプチドを下記に示す表に基づき決定する。

**【解析方法】**

- ① 5 ml の注射器にて 5ml の血液を採取
- ② 2000 x g、15 分、4℃で遠心分離後、0.5ml の血清を分離し、-80℃で保存
- ③ CTL 惹起可能前立腺癌腫瘍抗原ペプチドをラベルした蛍光ビーズに 1.5 μ l の血清を反応
- ④ ビオチン標識ウサギ抗ヒト IgG 抗体ならびに蛍光標識ストレプトアビジンを反応
- ⑤ Luminex system にサンプルを供しビーズ 100 個あたりの蛍光強度を測定する。

被検者の HLA-A 型のタイピングにより以下のペプチドに対する特異的 IgG 抗体の測定を実施する。

**HLA-A2 結合抗原ペプチドのリスト (12 ペプチド)**

名前	部位	アミノ酸配列
SART3-302	302-310	LLQAEAPRL
SART3-309	309-317	RLAEYQAYI
CypB-129	129-138	KLKHYGPGWV
Lck-246	246-254	KLVERLGAA
Lck-422	422-430	DVWSFGILL
ppMAPkkk-432	432-440	DLLSHAFFA
WHSC2-103	103-111	ASLSDPWV
WHSC2-141	141-149	ILGELREKV
UBE2V-43	43-51	RLQEWCSVI
UBE2V-85	85-93	LIADFLSGL
HNRPL-140	140-148	ALVEFEDVL
HNRPL-501	501-510	NVLHFFNAPL

**HLA-A24 結合抗原ペプチドのリスト(14 ペプチド)**

名前	部位	アミノ酸配列
SART2-93	93-101	DYSARWNEI
SART2-161	161-169	AYDFLYNYL
SART3-109	109-118	VYDYNCHVDL
Lck-208	208-216	HYTNASDGL
Lck-486	486-494	TFDYLRSLV
Lck-488	488-497	DYLRSVLEDF
MRP3-503	503-511	LYAWEPSFL

MRP3-1293	1293-1302	RYLTQETNKV
PAP-213	213-221	LYCESVHNF
PSA-248	248-257	HYRKWIKDTI
PSMA-624	624-632	TYSVSFDSL
EZH2-735	735-743	KYVGIEREM
EGF-R-800	800-809	DYVREHKDNI
PTH-rP-102	102-111	RYLTQETNKV

HLA-A3supertype (HLA-A11, HLA-A31, HLA-A33) 結合抗原ペプチド  
のリスト (5 ペプチド)

名前	部位	アミノ酸配列
PSA-16	16-24	DYSARWNEI
PAP-155	155-163	AYDFLYNYL
PSA-248	248-257	HYRKWIKDTI
PSMA-207	207-215	TYSVSFDSL
PSMA-431	431-440	KYVGIEREM

重複してタイピングされる場合は、それぞれのペプチドに対する特異的 IgG 抗体を合わせて測定することとする。

理論上、日本人で HLA-A2, A11, A24, A31, A33 のいずれかを保有する確率は約 98.5%でありほぼ全ての日本人をカバーできると考えている。なお、少数ではあるもののどちらの型にもタイピングされない被検者が存在することとなるが、その場合は当該検査を実施しないこととする。

(Japanese Society for Histocompatibility and Immunogenetics HLA data library より

<http://square.umin.ac.jp/JSHI/mhc.html> )

**\*組織検査 (免疫学的解析)**

ベクターを注入した腫瘍内における組織学的検査について、注入初期においてはマクロファージなどの抗原提示細胞が組織内に誘導され、時期を経て腫瘍細胞特異的な CTL が誘導されることが予想される。本臨床研究では 28 日毎に 3 回の IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを投与するため、局所における免疫細胞の発現を検討する時期としては初回投与後 3 ヶ月目に組織採取することにした。検討内容としては、腫瘍細胞の形態変化ならびにマクロファージなどの APC の有無、CD8+T 細胞など

の腫瘍特異的 T 細胞の発現である。組織学的検査には麻酔、針刺入など、侵襲性の問題があり、頻回には行えない欠点があるが、長期的な免疫応答を検討する為、投与 1 年後においても同様に解析し、投与局所における APC ならびに T 細胞の時間的な発現の変化も含め検討項目とする。

【実施時期】 治療前、初回投与後 3 ヶ月目( 継続投与を行う際には、3 ヶ月ごとに実施)、投与終了 1 年後より 1 年毎

【解析方法】

- ① 経直腸的ならびに経皮的針生検にて、4 本の腫瘍組織を採取
- ② 2 本はパラフィン処理を行い、HE 染色で腫瘍細胞の壊死や形態の変化などの殺細胞効果を評価
- ③ 残り 2 本の組織は凍結処理し、パラホルムアルデヒドで固定後、抗 CD20 抗体 (B cells) (Dako), 抗 CD8 抗体(killer T cells) (Neomarkers), および抗 CD68 抗体(macrophages) (Dako)を用い、アビジン・ビオチン・ペルオキシダーゼ複合体 (ABC) 法で免疫染色を行う。

4) 組織検査 (分子生物学的解析 : 導入遺伝子の解析)

被検者の同意が得られ、主治医が医学的に可能と判断した患者のみを対象とし発現解析を実施する。

【実施時期】 1 回目のベクター注入終了 48-72 時間以内

【採取方法】

前立腺局所注入の場合、超音波ガイド下に局所麻酔にてベクター注入部位より採取し直ちに凍結する。

転移巣部の場合、CT ガイド下に局所麻酔にてベクター注入部位より採取し直ちに凍結する。

【解析方法】

- ①凍結した生検組織より RNeasy Mini Kit(QIAGEN 社)を用いてトータル RNA を抽出し、更に、そのトータル RNA の一部からスーパースクリプト II (Invitrogen 社)を用いて逆転写反応を行い、相補的な DNA を合成する。
- ②相補的 DNA を用いて同一条件下で DNA 合成酵素の rTaq DNA polymerase(Takara Bio 社)を用いて PCR 法を行い、増幅された DNA を電気泳動し、導入した IL-12 特異的バンドの有無、強さを

解析する。PCR 施行時に必要なプライマーの設計および PCR 法の条件については、ベイラー医科大学と協議の上、また岡山大学における予備的実験を踏まえ、最終的に決定される（平成 19 年 9 月中を目途に決定したい）。

#### <安全性評価に関する検査>

(1) 症状に関する問診：

アレルギーの有無（例：発疹、呼吸困難感）など

(2) バイタルサイン：

体重、体温、血圧（収縮期/拡張期）、脈拍

(3) 呼吸機能検査：

胸部 X 線（正、横）

(4) 腎機能検査：

BUN、クレアチニン、尿蛋白、尿潜血、クレアチニンクリアランス

(5) 肝機能検査：

アルブミン、免疫グロブリン（IgG,IgA,IgM,IgD,IgE）、総ビリルビン、直接ビリルビン、AST, ALT, アルカリフォスファターゼ、LDH,  $\gamma$ -GTP

(6) 血液・凝固系：

赤血球数、ヘモグロビン、ヘマトクリット、白血球数、白血球分画、血小板数、PT, APTT, fibrinogen, 出血・凝固時間

(7) 炎症マーカー：

,CRP

(8) 血液電解質：

Na, K, Cl, Ca

(9) アデノウイルス中和抗体

(10) 血液中、尿中 アデノウイルスベクターの検出（PCR 法）

## (11) 病理解剖

遺伝子導入後の死亡例で、家族あるいは親族の承諾が取れた症例全てにおいて病理解剖を行う。

### 9-5-4-1. 治療開始前評価

- 1) 初回の治療を開始する前に、被験者の病歴（並存疾患、アレルギー歴、手術歴、既往歴、常用薬、喫煙歴）及び現症について記録する。この記録にはPS(performance status)、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、有害事象の評価指標（添付資料12-10.「有害事象の評価指標」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。
- 6) 免疫学的解析：詳細については9-5-4. 臨床検査項目及び観察項目に記載した。また詳細な実施時期については添付資料12-5に示した。測定方法については同じく9-5-4. 臨床検査項目及び観察項目に記載したが、参考のため添付資料12-6に免疫学的解析項目の測定方法としてペイラー医科大学での実施方法を示した。おおむねそれらの方法に準拠して実施する予定であるが、適宜情報交換を行い両機関よりのデータの整合性・互換性を保つ予定である。

### 9-5-4-2. 治療中評価

以下の検査を実施する。治療中の安全性ならびに効果判定に関する検査項目は、添付資料 12-5「安全性の評価に関する検査項目ならびにタイムスケジュール」、「効果判定に関する検査項目ならびにタイムスケジュール」を参照。

- 1) 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。
- 2) 排尿試験：アデノウイルスベクター注入直後に留置した尿道カテーテルを 24 時間後に抜去した際、その後の自然排尿の有無を確認する。自然排尿が不可能な場合は再度留置する。
- 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、治療中定期的に行い記録する。
- 4) 血清中、尿中におけるアデノウイルスベクターの検索を、PCR 法にて治療後 7 日目まで 2 日毎にチェックする。
- 5) アデノウイルスに対する中和抗体の産生を投与ごと 7 日、2 週、4 週後にチェックする。
- 6) 免疫学的解析：別紙検査計画に準じて実施する（添付資料 12-5）

#### 9-5-4-3. 治療後評価

3 回目の治療を終了した 28 日後に、臨床症状、検査および病変部の総合評価を行う。また、初回生検組織との grade、病変範囲および治療による細胞死の有無、腫瘍の消失を比較検討する目的で組織生検を行う。なお、12 週時点の総合評価にて悪化傾向を認めず (Progressive Disease でなく)、患者が希望する場合には治療を継続することができるものとする。追加投与について患者の了解が得られた場合、担当医師および総括責任者は 12 週時点の総合評価を含めた治療中、治療後に集積されたデータを含めて、追加投与申請書を安全・効果評価・適応判定部会に提出する。部会において追加投与に関する適格性を科学的、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する。追加投与の際には用量の変更は行わない。

- 1) 被験者の病状及び PS や体重を含む現症
- 2) 尿沈渣及び尿細菌培養ならびに感受性試験

3) 経直腸的前立腺超音波検査

4) 経直腸的前立腺生検術

初回投与後3ヶ月目(継続投与を行う際には、3ヶ月ごとに実施)、投与終了1年後より1年毎に実施する。

組織中の癌細胞の有無、アポトーシスの有無と程度、浸潤細胞の種類と程度を解析する。

5) CTならびに骨シンチによる遠隔転移部の画像評価

6) 血清中、尿中におけるアデノウイルスの有無の検索ならびに血清中のアデノウイルス抗体価

7) 血清PSAの測定

尚、被験者が死亡した場合は剖検を依頼し、癌組織及び正常組織を採取し、生検時と同様の組織学的・分子生物学的検討を行う。

8) 免疫学的解析：別紙検査計画に準じて実施する(添付資料12-5)

#### 長期的なフォローアップについて：

本臨床研究終了後、患者のフォローアップとして岡山大学医学部歯学部附属病院において投与終了後60ヶ月まで追跡調査をする。

通常の診療における検査項目に追加して以下の免疫学的検査を実施する(添付資料12-5)

治療終了後は、3ヶ月毎に末梢血を採取し①末梢血リンパ球の解析、②血清中サイトカインの測定、③細胞障害性試験によるNK細胞の機能解析、④CTL惹起可能前立腺癌腫瘍抗原ペプチド群に対する特異的IgGの測定にて全身的な腫瘍免疫を検討する。追跡期間としては、治療終了後5年間とする(実施計画上、患者のフォローアップ期間は治療終了後5年と規定していることより)。

組織採取はインフォームド・コンセントにて同意が得られ、主治医により医学的に可能であると判断された患者に対し、投与終了1年後より1年毎に経直腸的または経皮的に針生検を施行し、組織検査方法(免疫学的解析を含む)にて局所における抗腫瘍効果を解析する。但し、対象となる患者が5年間生存が期待しうるか否かは対象の選択には考慮しない。

### 有害事象について：

定義：本治療が実施された被験者に生じたあらゆる好ましくない医療上のできごと。必ずしも本治療との因果関係が明らかなもののみを示すものではない。つまり有害事象とは、本治療に際して起こる、あらゆる好ましくない、あるいは意図しない徴候（臨床検査値の異常変動を含む）、症状、又は病気のことであり、当該治験薬との因果関係の有無は問わない。本治療との因果関係が否定できないものを副作用とする。

### 記録・報告内容：

上記安全性評価のための検査において有害事象が認められた場合は、以下の細目についてすべて症例記録用紙に記録する。

- a) 有害事象の症状の詳細と、その前後の状況
- b) 有害事象の重症度（程度）

添付資料 12-10. 「有害事象の評価指標」に基づいて grade0~4 で評価する。この「副作用の評価指標」は、NCI (National Cancer Institute)の common toxicity criteria 日本語版（有害事象共通用語基準 v3.0）に基づいて作成されたものである。

- c) 発現日

有害事象の発現日（または確認日）を記録する。

- d) 処置

有害事象に対して行われた処置について記録する。

- e) 転帰

有害事象の転帰について下記の基準により判断し、記録する。

転帰を確認した日付も同時に記録する。

- 1：後遺症あり：有害事象により後遺症が残った
- 2：未回復：有害事象が回復していない
- 3：軽快：有害事象の程度が発現当時と比較して軽快している

4：回復：発現した有害事象が消失した

5：死亡

6：不明

f) 併用薬および臨床研究薬以外の被疑薬の有無

有害事象発生前後の併用薬の投薬状況について、全て記録する。併用薬の中に有害事象との関連が疑われるものがある場合は、その旨、ならびにその根拠について略述する。

有害事象と臨床研究薬の関連性の判定は、以上の臨床的所見ならびに診療録（併用薬、併用療法、合併症、患者背景）などを総合的に考慮し、安全・効果評価・適応判定部会は以下の4段階で判定する。本委員会の結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告され、遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長は病院長に意見を報告しその結果が総括責任者に通知される。またその写しを所轄官庁へ報告する。

関連性の4段階評価：

1：明確にあり

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性が否定され、投薬中止により症状が消失した場合。

2：多分にあり

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がおそれないと考えられ、投薬中止により症状が消失した場合。

3：可能性を否定できない

臨床研究薬を投与した後、一定期間内に発現した事象であり、臨床研究薬と有害事象が関連する可能性があるが、他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性も否定できない場合。

4：関連無し

明らかに臨床研究薬との関連性が否定でき、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や

治療など）との関連性がある場合。あるいは臨床研究薬を投与した後、一定期間外に発現した事象であり（投与してから有害事象が起こるまでの期間が明らかに短すぎる、もしくは長すぎる）、かつ明らかに他の要因（原疾患、環境因子、他の薬剤や治療など）との関連性がある場合。

#### 9-5-5. 予測される副作用及びその対処方法

##### 9-5-5-1. 当該治療によって生じると考えられる副作用とその対処法

ウイルスベクターによる感染・炎症、局所投与に伴う尿閉、出血（直腸出血、血尿）などがあるので、治療期間中は嚴重な症状観察を行い対処する。

###### 1) 排尿痛：尿道へのカテーテル留置によるもの

（対処法）消炎鎮痛剤、軽度な場合は経過観察する

###### 2) 血尿：尿道へのカテーテル留置によるもの

（対処法）止血剤、軽度な場合は経過観察する

###### 3) 尿路性器感染症：尿道へのカテーテル留置によるもの

（対処法）抗菌薬の投与、発熱を認める場合は解熱剤を投与

###### 4) 直腸出血：経直腸的前立腺穿刺によるもの

（対処法）止血剤、軽度な場合は経過観察する

###### 5) 頭痛：腰椎麻酔に起因

（対処法）鎮痛剤、軽度な場合は経過観察する

##### 9-5-5-2. これまでの国内外の報告から、遺伝子治療一般に比較的好く見られる軽い副作用

対処法は定型的なものを記載するが、これに限るものではない。

###### 1) 感冒様症状（発熱、鼻水、など）

→（対処法）消炎鎮痛剤、消炎酵素剤、抗生物質、抗アレルギー剤、  
抗ヒスタミン剤などの投与

###### 2) 消化器症状（下痢、吐き気など）

→（対処法）症状に合わせた薬剤の投与

3) 軽いアレルギー性反応（発疹など）

→（対処法）抗アレルギー剤、抗ヒスタミン剤、ステロイドなどの投与

4) 軽度の白血球減少

→（対処法）原則的に経過観察

9-5-5-3. これまでの国内外の報告から、まれではあるが遺伝子治療に見られた比較的強いと考えられる副作用。対処法は典型的なものを記載するが、これに限るものではない。

1) 腎機能障害

→（対処法）試験中止、抗ウイルス薬、輸液、利尿剤などの投与

2) 骨髄抑制（高度の貧血、高度の白血球減少など）

→（対処法）試験中止、抗ウイルス薬、G-CSF 投与、輸血

3) 重篤アレルギー症状（喘息発作、ショック）

→（対処法）試験中止、ステロイド投与

4) 血液凝固障害（出血傾向、血栓症など）など

→（対処法）試験中止、蛋白分解酵素阻害剤、血栓溶解剤投与など

9-5-5-3. 有害事象等重大事態発生時の報告等について

1) 重大事態等：下記のいずれかに該当する場合は、「重大事態等」として取り扱う。

(1) 被験者が死亡した場合

(2) 重篤<sup>注)</sup>な副作用が発生した場合

(3) 本臨床研究の実施に影響を及ぼす可能性のある知見（国内外を問わない）を入手した場合

注) 重篤の定義

(1) 死亡

(2) 死亡につながる恐れのある事象

- (3) 入院または入院期間の延長が必要とされる事象
- (4) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象
- (5) 先天異常・出生異常
- (6) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながる恐れ」または「入院」には至らなくとも被験者を危険にさらしたり、上記のような結果に至らぬように内科的または外科的処置を必要とした場合には、適切な医学的判断に基づいて、重篤な事象と判断する。

#### 1) 重大事態発生の対応・報告

- (1) 報告：重大事態の場合、岡山大学病院長、安全・効果評価・適応判定部会、遺伝子治療臨床研究審査委員会、ならびに所轄官庁へ速やかな報告を行う（認知から24時間以内。文書での報告は15日以内）。この時の重篤な副作用の本臨床研究との関連については、総括責任者の判断とする。
- (2) 記録・報告内容：総括責任者と実施担当医師は、認知より15日以内を目安に重大事態報告書を用いて報告を行い、同一のものをカルテに添付する。

#### 2) 重大事態でない有害事象の対応・報告

重大な事態でない有害事象は、次ステージへの移行時、必要時、及び総合的判断時実施される安全・効果評価・適応判定部会判定される。委員会は結果報告書ならびに参加委員全員の署名または記名捺印を受けた出席リストを添付した議事録を作成し、委員会の記録の写しとともに、遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告され、遺伝子治療臨床研究審査委員会委員長は病院長に意見を報告しその結果が総括責任者に通知される。またその写しを所轄官庁へ報告する。

#### 9-5-5-4. 最大耐量の決定方法について

IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターの各濃度につきそれぞれ3人ずつの被験者に投与する。3人の内1人に grade3 以上(血液系では grade4)の副作用（添付資料 12-10. 「有害事象の評価指標」 参

照)が認められた場合、さらに3人の被験者にその濃度の IL-12 アデノウイルスベクターを投与する。

6人中2人以上の被験者で grade3 以上 (血液系では grade4) の副作用が見られた時点で、その濃度より1段階低くそれらの副作用を生じない濃度を最大耐量(MTD)とする。

#### 最大耐量の決定方法

grade3 以上 (血液系では grade4) の

副作用が見られた被験者数	次回 IL-12 投与量
0 / 3	2 ないし 5 倍増量
1 / 3	さらに 3 人の被験者を評価
1 / 3 + 0 / 3	2 ないし 5 倍増量
1 / 3 + 1 / 3	中止 : 2 ないし 5 分の 1 量 = 最大耐量
1 / 3 + 2 / 3	中止 : 2 ないし 5 分の 1 量 = 最大耐量
1 / 3 + 3 / 3	中止 : 2 ないし 5 分の 1 量 = 最大耐量
2 / 3	中止 : 2 ないし 5 分の 1 量 = 最大耐量
3 / 3	中止 : 2 ないし 5 分の 1 量 = 最大耐量

#### 9-5-6. 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

##### 9-5-6-1. 治療効果の評価方法及び評価基準

##### 臨床的効果

①. 治療効果は PSA ならびに CT などの画像により評価をおこなう。以下に PSA の評価指標を示す。

- 1) Complete Response (CR) : 血清 PSA の値が 4ng/ml 以下に下降し、前立腺生検にて癌病巣が検出されず、癌に関連した症状を認めない場合
- 2) Partial Response (PR) : 血清 PSA の値が 50%以上下降したものの 4ng/ml 以下には下降しなかった場合。もしくは血清 PSA の値が 4ng/ml 以下に下降したものの生検で癌細胞を認める場合
- 3) No Change (NC) : 血清 PSA の値が 50%未満の改善か 25%未満の増悪を呈した場合
- 4) Progressive Disease (PD) : 血清 PSA の値が 25%以上の増悪を来した場合、もしくは推定腫瘍

体積の 25%あるいはそれ以上の増加が見られた場合、また同等の新しい病変が生じた場合  
効果持続期間は効果判定の条件とはせずに、効果発現時期、PR 到達時期、CR 到達時期、病変の増悪  
時期および患者生存期間を観察し別に明記する（前立腺癌取り扱い規約：前立腺癌の非観血的治療  
効果判定基準に準拠）。

②. CT などによる画像評価は The Response Evaluation Criteria in Solid Tumor Group (RECIST  
Group) の評価基準を用いて評価する。測定可能病変（1 臓器 5 個、全体で 10 個まで）の最大長  
の和をもって効果を評価する。以下に RECIST 評価基準を示す。

- 1) Complete Response (CR): すべての測定可能病変の消失
- 2) Partial Response (PR): 少なくとも治療前の最大長の和と比して 30%減少
- 3) Progression (PD): 少なくとも治療前の最大長の和と比して 20%増加、あるいは新病変の出現
- 4) Stable Disease (SD): PR とするには腫瘍の縮小が不十分で、かつ PD とするには腫瘍の増大が  
不十分な場合

#### 9-5-6-2. 治療中止の判定基準

- 1) 血小板数減少、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、(または) 非可逆性で対症療法によって管理できない場合。
- 2) 抗癌剤 (LH-RH アゴニストは含まない) や IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクター以外の  
実験的薬物を投与した場合。
- 3) 本臨床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。

#### 9-5-6-3. 試験の安全性確保

- 1) 本実施計画書は、岡山大学医学部・歯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、厚生科学審議会科学技術部会ならびにがん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて科学面、倫理面について審議される。(添付資料 12-11)
- 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臨床研究における被験者の適格性を科学的・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、または本臨床研究の最大耐量の判定が可能となった場合に、本臨床研究を中止あるいは終了するか否かを協議する。
- 3) 重篤な有害事象や副作用が確認されたとき、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。総括責任者は岡山大学病院長、安全・効果評価・適応判定部会、遺伝子治療臨床研究審査委員会、ならびに所轄官庁へ速やかな報告を行う（認知から 24 時間以内。文書での報告は 15 日以内）。また試験継続の可否について安全・効果評価・適応判定部会に諮るものとする。

#### 9-5-7. 症例記録に関する記録用紙などの様式

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。

#### 9-5-8. 記録の保存及び成績の公表の方法

本遺伝子治療研究によって得られる情報は 項目「10. 当該遺伝子治療研究における個人情報保護に関する対処」において定義される個人情報に該当するため適切な取り扱いが求められる。

- 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ならびに家族（あるいは親族）もしくは立会人（患者に家族ならびに親族がない場合、患者の親しい間柄の人を同席させたいという希望が患者からあった場合）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、本臨床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。記名捺印または署名された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) アデノウイルスベクター投与前に、本臨床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載する。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、消失または安定化するまで、かつウイルスベクター液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。本臨床研究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。臨床研究終了後に発生した重篤な有害事象は薬剤投与も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、岡山大学医学部・歯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、本臨床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) 本臨床研究に関するすべての記録は、総括責任者の責任のもと岡山大学医学部・歯学部附属病院医事課に保存される。
- 8) 本臨床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。
- 9) 実施施設の長である岡山大学医学部・歯学部附属病院長は、遺伝子治療臨床研究審査委員会が判断した基準のもと、本臨床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。

#### 9-5-9. 実施計画の変更について

実施計画を変更する必要がある場合は、指針第3章第4の2により、病院長を介して厚生労働大臣（大学等にあつては、厚生労働大臣及び文部科学大臣）に対し報告する。具体的には総括責任者は変更内容を遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告する。委員会での審査を行いその結果を委員長は病院長に通知する。

#### 10. 本遺伝子治療臨床研究における個人情報保護に関する対処

本項目は遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成16年12月28日公表、平成17年4月1日から適用）、「第6章 個人情報の保護に関する処置」に準拠している。

##### 10-1. 個人情報の定義について

「個人情報」とは「個人情報の保護に関する法律」（以下「個人情報保護法」という）、「医療・介護関係事業者における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドライン」（以下「ガイドライン」という）および「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（以下「指針」という。）に基づく症例に関する情報を示し、「生存する個人に関する情報であつて、当該情報に含まれる氏名、生年月日その他の記述等により特定の個人を識別することができるもの（他の情報と容易に照合することができ、それにより特定の個人を識別することができることとなるものを含む。）をいう」と定義する。

また本遺伝子治療臨床研究は、遺伝情報を明らかにする研究ではなく、研究において個人の遺伝情報が明らかになるものではない。

#### 10-2. 研究を行う機関の長の最終的な責務

研究を行う機関の長である岡山大学学長は、遺伝子治療臨床研究の実施に際し、個人情報保護が図られるよう務める。個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するため必要があると認めるときは、総括責任者に対して、監督上必要な命令をする。

総括責任者：所属 岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科

職種 病態制御科学専攻（泌尿器病態学分野）教授 氏名 公文裕巳

#### 10-3. 診療・教育機関としての岡山大学医学部・歯学部附属病院における個人情報の一般的な取り扱い

岡山大学医学部・歯学部附属病院は診療・教育機関として、臨床医学の発展と次世代を担う医療人の育成という社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為・教育に関する以下の目的に限り、患者様の個人情報を使用する。この使用に関しては、個人情報の保護の法律に基づいた国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程（添付資料 12-12）や研究活動の実施に関する法令や倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。

##### 1) 岡山大学での利用

- ・被験者が受ける医療サービス
- ・医療保険事務
- ・被験者に関する管理運営業務

（入退院等の病棟管理、会計・経理、医療事故の報告、医療サービスの向上）

##### 2) 岡山大学医学部・歯学部附属病院および岡山大学での医療教育における利用

- ・医学・私学・薬学・保健学系の教育（病院内での診療等に関わる医学教育に限る）
- ・教職員の研修（研修医や新任看護師等への病院内研修や病院事務系職員の研修等に限る）

- ・研究活動（遺伝子治療臨床研究を含め、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合は、それを遵守する）

### 3) 他の事業者等への情報提供

- ・他の病院・診療所・薬局・訪問看護ステーション・介護サービス事業者等との医療サービス等に関する連携
- ・他の医療機関等からの医療サービス等に関する照会の回答
- ・被験者の診療等にあたり、外部の医師等の意見・助言を求める場合
- ・検体検査業務の委託、その他業務委託
- ・被験者の家族等への診療に関わる説明
- ・医療保険事務
- ・審査支払機関または保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出および報告書
- ・関係法令に基づいて事業者等からの委託を受けて健康診断を行った場合の事業者等へのその結果の通知
- ・医師賠償責任保険等に関わる医療に関する専門の団体、保険会社等への相談または届出等
- ・医療上の安全に関わる行政機関または医療に関する専門の団体等への届出等
- ・医学・歯学・薬学・保健学系の教育研究機関への提出
- ・他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動

#### 10-4. 本遺伝子治療臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取り扱い

本遺伝子治療臨床研究で扱う被験者の診療録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他、特別の目的で使用する場合は、事前に被験者および家族（あるいは親族）（以下「被験者等」という。）に再度説明し、了解を得てから使用する。また本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に、研究成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形、すなわち個人情報を保護して

公開する。これらのことは被験者等への同意説明文書中に記載し、被験者への個人情報および使用目的について通知し、同意を得ることとする。

#### 10-5. 利用目的による制限

総括責任者は、あらかじめ被験者等の同意を得ないで、あらかじめ特定された利用目的の達成に必要な範囲を超えて個人情報を取り扱わない。ただし以下に列挙する場合であって、遺伝子治療臨床研究審査委員会が承認した場合については、適用しない。

- 1 法令に基づく場合
- 2 人の生命、身体又は財産の保護のために必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- 3 公衆衛生の向上のために特に必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることが困難であるとき。
- 4 国の機関若しくは地方公共団体又はその委託を受けた者が法令の定める事務を遂行することに対して協力する必要がある場合であって、被験者等の同意を得ることにより当該事務の遂行に支障を及ぼすおそれがあるとき。

#### 10-6. 適正な取得と取得に際しての利用目的の通知等

総括責任者は本遺伝子治療臨床研究において、偽りその他不正の手段により個人情報を取得しない。個人情報を取得した場合は、あらかじめその利用目的を公表している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者等に通知し又は公表するとともに、利用目的を変更した場合は、変更された利用目的について被験者等に文書にて通知し、又は公表するものとする。

#### 10-7. 内容の正確性確保

治療結果データを含めた個人情報は、定期召集される安全・効果評価・適応判定部会で常に検証されるものとし、その内容の正確性と最新の内容に保つよう努める。

#### 10-8. 安全管理措置

組織的、人的、物理的、および技術的安全管理措置については、「個人情報保護法」、「ガイドライン」、「指針」および「国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程」に基づいた措置を講ずる。

#### 10-9. 委託者等の監督

本臨床研究は岡山大学医学部・歯学部附属病院内で実施され、被験者から取得したデータは治験と同様、個人を容易に特定できないよう個人情報が図られている。しかし、一部の臨床検査データは外部検査業者に委託されるため、岡山大学医学部・歯学部附属病院は、契約書及び機密保持契約書にて岡山大学医学部・歯学部附属病院個人情報規定に定められている業務の委託に関する条項について、岡山大学医学部・歯学部附属病院が求める個人情報の管理状況について確認している。

#### 10-10. 第三者提供の制限

本臨床研究は、米国ベイラー医科大学との共同研究であり、前述共同機関とデータを共有する可能性について、予め「前立腺がん遺伝子臨床研究のための説明と同意書」に記載・説明し、同項についても合わせて文書での同意を得るものとする。また原則として、共同研究機関以外に対する個人情報の提供は行わないが、止む得ず研究・解析目的での提供が必要な場合には、適切な目的であることを確認し、遺伝子治療臨床研究に関する指針の第六章第九に従い、その旨被験者へ文書にて通知する。

#### 10-11. 保有する個人情報に関する事項の公表等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知り得る状態（被験者等の求めに応じて遅滞なく回答する場合を含む。）におく。

- 1 本臨床研究を行う機関の名称
- 2 すべての保有する個人情報の利用目的

- 3 利用目的の通知、個人情報の開示、訂正、利用停止に応じる手続き
- 4 保有する個人情報の取扱いに関する苦情の申出先

#### 10-12. 個人情報の開示

総括責任者は、被験者等から、当該被験者が識別される保有する個人情報の開示（当該被験者が識別される保有する個人情報が存在しないときにその旨を知らせることを含む。以下同じ。）を求められたときは、被験者等に対し書面の交付による方法（被験者等が同意した方法があるときには、当該方法）で開示する。ただし以下に記載した事項に該当する場合はその全部又は一部を開示しない。

- 1 被験者又は第三者の生命、身体、財産その他の権利利益を害するおそれがある場合
- 2 研究を行う機関の業務の適正な実施に著しい支障を及ぼすおそれがある場合
- 3 他の法令に違反することとなる場合

#### 10-13. 個人情報の訂正および利用停止等

被験者または代諾者から、岡山大学医学部・歯学部附属病院が保有する被験者が識別される個人情報の内容が事実でないという理由によって当該情報に対して訂正、追加または削除を求められた場合、総括責任者が調査を行い、その結果に基づき総括責任者は必要な是正措置を行う。なお法定代理人等を含めた代諾者からの申し出も受け付けるものとするが、その事実性や提供者の判断および理解力について、総括責任者は慎重に判断するものとする。

#### 10-14. 理由の説明

「10-12, 10-13」に関して個人情報の開示、訂正、利用停止等に関し、被験者等から求められた措置の全部又は一部について、その措置をとらない旨を通知する場合またはその措置と異なる措置をとる旨を通知する場合は、被験者等に対し、その理由を説明するよう努める。

10-15. 個人情報の開示、訂正、利用停止等の求めに応じる手続

個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続きは、岡山大学医学部・歯学部附属病院個人情報保護法取り扱い規定（国立大学附属病院における個人情報の適切な取り扱いのためのガイドラインに準拠）に基づいた一連の指針に沿って実施する。

10-16. 苦情の対応

苦情相談の窓口として、以下のとおり設置する。

岡山大学医学部・歯学部附属病院 医事課患者支援係

郵便番号 700-8558

岡山市鹿田町 2-5-1

電話 : 086-235-7205

## 11-2. 実施施設の施設設備の状況

岡山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CO<sub>2</sub>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。本臨床研究に用いる非増殖性IL-12アデノ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実験室及び基礎研究棟ウイルス学教室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IL-12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アデノウイルスベクターの品質管理であり、この点は製造元のベイラー医科大学により十分な管理が行われている。岡山大学医学部・歯学部附属病院泌尿器科では、前立腺癌患者あるいは前立腺癌が疑われた患者に対する通常の処置として、超音波ガイド下生検を日常的に施行しており、また超音波ガイド下の前立腺薬液注入に関しても前立腺炎治療として多数例に施行している。CTガイド下の穿刺については治療、検査目的にて日常的に施行しており、またCTガイド下のベクター注入に関しては、岡山大学医学部・歯学部附属病院遺伝子・細胞治療センターにおける実施経験がある。以上より、臨床的技術の点では本臨床研究の実施には問題ないと考えられる。ウイルス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南病棟5階の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、本臨床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られる。

11-3. 本遺伝子治療研究に関連する国内外の研究状況

11-3-1. IL-12 遺伝子治療に関して

前立腺癌について：

IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床プロトコールは、2001年8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)の認可を受けた。2004年5月18日ベイラー医科大学において第1例目の前立腺癌に対するIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が施行された。本臨床研究とベイラー医科大学で行われているIL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究とのプロトコール比較表を以下に提示する。

研究名	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学	
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)	
実施症例	未実施	4 名(平成 19 年 6 月現在)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター		
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室 (同一の構造、方法にて製造)		
遺伝子	Interleukin-12		
ベクター投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp	
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp	
対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B,C,D	B,C,D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準 3 人 (最大 6 名) 標準 21 人 (最大 36 名)	各レベル標準 3 人 (最大 5 名) 標準 21 人 (最大 35 名)

注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺
治療としての 位置付け	局所および全身治療	

バイラー医科大学では 2007 年 6 月現在までに 4 例に対して実施されており重篤な副作用は発生していないとの情報を得ている。本臨床研究において用いる IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターはバイラー医科大学医科大学の臨床研究と同じく、同医科大学遺伝子ベクター室において作製されたものを用いる。

前立腺癌以外の癌種について：

本臨床研究と同様に IL-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については進行消化器癌を対象とした第 1 相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認された<sup>32)</sup>。また 21 例中 1 例に部分寛解 (PR: partial response) 10 例に病状の安定化 (SD: stable disease) を認め有効症例が確認されている。

ベクターの局所投与以外の手法として、IL-12 遺伝子発現レトロウイルスベクターを用いて体外において遺伝子導入された自己の線維芽細胞を腫瘍内に投与する手法を用いて種々の悪性腫瘍を対象とした研究が米国において実施された。副作用はまったく出現せず、腫瘍の 50% 以上の縮小を 6 例中 2 例に認めた (1996 年)<sup>30)</sup>。さらに、自己の悪性黒色腫細胞にプラスミドを用いて IL-12 を遺伝子導入し IL-12 産生細胞を調製し、ワクチンとして皮下投与するという手法を用いた研究が実施された (1998 年ドイツ)<sup>31)</sup>。本研究においては軽度の発熱を認めたのみで重篤な副作用は出現しなかった。2 例において自己の腫瘍細胞に対する遅延型皮膚反応を認め、1 例に若干の腫瘍縮小効果を認めた。

#### 11-3-2. 前立腺癌遺伝子治療について

アデノウイルスベクターを前立腺局所に投与することの手技、安全性、ならびに倫理的、科学的妥当性に関しては、既に米国<sup>25) 34)</sup> ならびに岡山大学において実施されている Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究において確認された。岡山大学では内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認

めない局所再燃前立腺癌を対象とし HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後ガンシクロビルを全身投与する臨床研究を実施した。本研究は 2001 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、平成 17 年 7 月に最終登録例である 9 例目の被験者の治療を実施し、6 ヶ月以上観察し、臨床試験を終了とした (8 名のべ 9 症例)。9 症例すべてにおいて有意な副作用を認めなかった。また、ウイルスベクター投与後の抗アデノウイルス中和抗体価の上昇は軽度でかつ一過性であった。ウイルスベクター投与後、48 時間において採取した組織において mRNA レベルでの HSV-tk 遺伝子の発現が確認された。治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例において低下した。結論として局所再燃前立腺癌に対し、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所内投与し、その後 GCV を全身投与することの安全性および治療効果が確認された。

以下に HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究と本臨床研究との対比表を示す。

研究名	前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究	
承認日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 11 年 9 月 16 日 (国の承認)	
実施症例	未実施	9 名(終了)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター	アデノウイルスベクター	
遺伝子	Interleukin-12	HSV-tk	
対象となる患者	年齢	上限なし	上限なし
	前治療	内分泌療法	内分泌療法
	病期	B,C,D	B,C
	転移症例	含まれる	含まれない
	術後の再発	含まれる	含まれない
注入部位	前立腺、術後再発部位、転移部	前立腺	
治療としての位置付け	局所および全身治療	局所治療	
全身効果	マウスでは確認、	マウスでは確認、ヒトでは一部確	

	ヒトではこれから確認	認された (米国)
米国での状況	FDA の実施承認済み、2004 年 5 月に実施	36 例終了(2000)、拡大研究実施中 (オランダ、メキシコ)、他の治療との併用
安全性	確認	確認済み (日、米)
治療効果 (日米を含め)	観察中	有意な効果を確認 (日、米)

転移病巣に対するアデノウイルスベクターの直接投与については、米国バージニア大学、神戸大学において実施され、オステオカルシン・プロモータを組み込んだ HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの投与が承認されている。(注：ベイラー医科大学・岡山大学はサイトメガロウイルス・プロモータを使用。)

#### 11-4. IL-12 アデノウイルスベクターの供給、保管、及び品質管理

本臨床研究に用いられる IL-12 ウイルスベクターは、現行の FDA ガイダンス、GMP 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原材料から製造工程、最終製品に至るまで一貫した品質管理のもとにベイラー医科大学遺伝子ベクター室において生産されており、ベイラー医科大学より供与を受ける。

岡山大学附属病院遺伝子・細胞治療センター（平成 15 年度設置）において受け入れ試験を施行した後、同所において保管される。

11-5. 引用文献のリスト

- 1) 黒石哲生, 広瀬かおる, 田島和雄 : 日本のがん死亡の将来予測. がん・統計白書罹患/死亡/予後 219-234, 篠原出版新社, 2004
- 2) Stephen A. Mangar, Robert A. et al : Technological advances in radiotherapy for the treatment of localised prostate cancer. European Journal of Cancer 41 : 908-921, 2005
- 3) Christopher L. Amling, MD, FACS : Biochemical Recurrence after Localized Treatment. Urol Clin N Am 33 147-159 2006
- 4) Anthony V. D'Amico Evidence Based Approach to Combining Androgen Suppression and Radiation Therapy for Locally Advanced or Clinically Localized Prostate Cancer AUA Update series 24, 189-195, 2005
- 5) Lankford SP., Pollack A., Zagars GK. : Radiotherapy for regionally localized hormone refractory prostate cancer. International Journal of Radiation Oncology, Biology, Physics, 33 : 907-12, 1995
- 6) Petrylak DP, Tangen CM, Hussain MHA, et al : Docetaxel and estramustine compared with mitoxantrone and prednisone for advanced refractory prostate cancer. New England Journal of Medicine, 351 : 1513-1520, 2004
- 7) Tannock IF., et al : Docetaxel plus prednisone or mitoxantrone plus prednisone for advanced prostate cancer. New England Journal of Medicine, 351 : 1502-1512, 2004
- 8) 濱岡利之, 藤原大美 : IL-12 の腫瘍免疫における役割と臨床応用の可能性. Moleccular Medicine, 35 (9) : 1126-1136, 1998
- 9) Leonard JP., Sherman ML., Fisher GL., Buchanan LJ., Larson G., Atkins MB., Sosman JA., Dutcher JP., Vogelzang NJ., Ryan JL. : Effects of single-dose interleukin-12 exposure on interleukin-12 associated toxicity and interferon-gamma production. Blood, 90 : 2541-2548, 1997
- 10) Motzer RJ., Rakhit A., Schwartz LH., Olencki T., Malone TM., Sandstrom K., Nadeau R., Parmar H., Bukowski. : Phase I trial of subcutaneous recombinant human interleukin-12 in

- patients with advanced renal cell carcinoma. *Clin. Cancer Res* , 4:1183-1191, 1998
- 11) Bajetta E., Del Vecchio M., Mortarini R., Nadeau R., Rakhit A., Rimassa L., Fowst C., Borri A., Anichini A., Parmiani G.: Pilot study of subcutaneous recombinant human interleukin 12 in metastatic melanoma. *Clin Cancer Res*, 4:75-85, 1998
  - 12) Rook AH. : Weukin-12 therapy of cutaneous T-Cell lymphoma induces lesion regression and cytotoxic T-cell responses. *Blood*, 94:902-8, 1999
  - 13) Zeuzem S., Hopf U., Carreno V., Diago M., Shiffman M., Grune S., Dudley FJ., Rakhit A., Rittweger K., Yap SH., Koff RS., Thomas HC.: A phase I/II study of recombinant human interleukin-12 in patients with chronic hepatitis C. *Hepatology* , 29:1280-7, 1999
  - 14) Caruso M., Nguyen KP., Kwong YL., Xu B., Kosai K., Finegold M., Woo SLC., Chen SH. : Adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for metastatic colon carcinoma. *Proc Natl Acad Sci*, 93 : 11302-11306, 1996
  - 15) Bramson J., Hitt M., Gallichan WS., Rosenthal KL., Gauldie J., Graham FL. : Construction of a Double Recombinant Adenovirus Vector Expressing a Heterodimeric Cytokine : In Vitro and In Vivo Production of Biologically Active Interleukin-12. *Human Gene Therapy* , 7 : 333-342, 1996
  - 16) Duda DG., Sunamura M., Lozonschi L., Kodama T., Egawa S., Matsumoto G., Shimamura H., Shibuya K., Takeda K., Matsuno S. : Direct in Vitro Evidence and in Vivo Analysis of the Antiangiogenesis Effects of Interleukin 12. *Cancer Research*, 60 : 1111-1116, 2000
  - 17) Nasu Y., Bangma CH., Hull GW., Lee HM., Hu J., Wang J., McCurdy MA., Shimura S., Yang G., Timme TL., Thompson TC. : Adenovirus-mediated interleukin-12 gene therapy for prostate cancer : suppression of orthotopic tumor growth and pre-established lung metastases in an orthotopic model. *Gene Ther*, 6 : 338-349, 1999
  - 18) Taylor CD., Elson P., Trump DL. : Importance of continued testicular suppression in hormone-refractory prostate cancer. *Journal of Clinical Oncology*, 11 : 2167-72, 1993

- 19) 藤原俊義, 田中紀章 : 遺伝子治療はどこまで進んでいるのか, p53 遺伝子を用いたがんの遺伝子治療. 分子がん治療, 2:84-91, 2001
- 20) 那須保友 : 遺伝子治療はどこまで進んでいるのか, 泌尿器科領域のがん. 分子がん治療, 2:92-98, 2001
- 21) Thompson TC., Timme TL., Ebara S., Sato T., Yang G., Wang J., Ayala G., Wheeler TM., Kadmon D. : In situ gene therapy for prostate cancer: immunomodulatory approaches. *Exp Opin Biol Ther*, 1 : 481-495, 2001
- 22) 藤原大美 : 造血医学と細胞療法. 腫瘍免疫の制御, 腫瘍免疫とサイトカイン. 医学のあゆみ, 194: 1222-1229, 2000
- 23) Srivastava S., Katayose D., Tong YA., Craig CR., Mcleod DG., Moul JW., Cowan KH., Seth P.: Recombinant Adenovirus Vector Expressing Wild Type p53 Is a Potent Inhibitor of Prostate Cancer Cell Proliferation. *Adult Urology*, 46:843-848, 1995
- 24) Timme TL. et al.: Local inflammatory response and vector spread after direct intraprostatic injection of a recombinant adenovirus containing the herpes simplex virus thymidine kinase gene and ganciclovir therapy in mice. *Cancer Gene Therapy*, 5:74-82, 1998
- 25) Herman JR., Adler HL., Aguilar-Cordova E., Rojas-Martinez A., Woo S., Timme TL., Wheeler TM., Thompson TC. and Scardino PT.: *In Situ* Gene Therapy for denocarcinoma of the Prostate: A Phase I Clinical Trial. *Human Gene Therapy* 10:1239- 1249, 1999
- 26) Atkins MA., Robertson MJ., DeCoste M., DuBois JS., Ritz Jerome., Sandler AB., Edington HD., Garzone PD., Mier JM., Canning CM., Battiato L., Tahara H., Sherman ML. : Phase I evaluation of intravenous recombinant human interleukin-12 in patients with advanced malignancies. *Clin Cancer Res*, 3:409-417, 1997
- 27) Sacco S., Heremans H., Echtenacher B., Wuurman WA., Amraoui Z., Goldman M., Ghezzi P.: Protective effect of a single interleukin-12 (IL-12) predose against the toxicity of subsequent chronic IL-12 in mice, Role of cytokines and glucocorticoids. *Blood*, 90:4473-4479, 1997

- 28) Weiss G., O'Donnell M., Conlon K., Sherman M.: Phase I trial of the intravesical administration of recombinant human interleukin-12 (rhIL-12) for superficial transitional cell bladder carcinoma (STCC). *Proc Am Soc Clin Oncol* , 18:1284A. 1999
- 29) Lenzi R., Kudelka AP., Verschraegen C., Nash M., Loercher A., Zhang HZ., Katz RL., Abbruzzese JL., Kavanagh JJ., Platsoucas CD., Freedman RS.: Recombinant human interleukin-12 (rhIL-12) in patients with ovarian and gastrointestinal cancers. Evidence of biological activity and lack of significant toxicity with low-dose intraperitoneal (IP) administration. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 18:1721A, 1999
- 30) Tahara H., Zitvogel L., Sorkus WJ., Elder EM., Kinzler D., Whiteside TL., Robbins PD., Lotze MJ.: Phase I trial of interleukin-12 (IL-12) gene therapy using direct injection of tumors with genetically engineered autologous fibroblasts. *Proc Am Soc Clin Oncol*, 15:579A, 1996
- 31) Sun Y., Jurgovsky K., Moller P., Alijagic S., Dorbic Y., Georgieva J., Wittig B., Schadendorf D.: Vaccination with IL-12 gene-modified autologous melanoma cells: preclinical results and a first clinical phase I study. *Gene Ther*, 5:481-490, 1998
- 32) Sangro B., Mazzolini G., Ruiz J., Herraiz M., Quiroga J., Herrero I., Benito A., Larrache J., Pueyo J., Subtil JC., Olague C., Sola J., Sadaba B., Lacasa C., Melero I., Qian C., Prieto, J. :Phase I trial of intratumoral injection of an adenovirus encoding interleukin-12 for advanced digestive tumors. *J Clin Oncol*, 22: 1389-1397, 2004
- 33) Komatsu N, Shichijo S, Nakagawa M, and Itoh K: New multiplexed flow cytometric assay to measure anti-peptide antibody: A novel tool for monitoring immune responses to peptides used for immunization. *The Scandinavian journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 64: 535-546, 2004
- 34) Miles BJ., Shalev M., Aguilar-Cordova E., Timme TL., Lee H-M., Yang G., Adler HL., Kern K., Pramudji CK., Satoh T., Gdor Y., Ren C., Ayala G., Wheeler TM., Butler EB., Kadmon D.,and Thompson T.C.: Prostate-Specific Antigen Response and Systemic T Cell

Activation After *In Situ* Gene Therapy in Prostate Cancer Patients Failing Radiotherapy.

Human Gene Therapy 12:1955–1967,2001

添付書類 12-1.

前立腺がん遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

①. 内分泌抵抗性局所再燃前立腺癌（非転移症例）

# 目 次

1.	はじめに	2
2.	臨床研究について	2
3.	あなたの前立腺がんについて	3
4.	遺伝子治療臨床研究の概要について	3
5.	アデノウイルスベクターについて	3
6.	臨床研究の目的について	5
7.	臨床研究の進め方について	5
8.	適応判定について	6
9.	遺伝子治療の方法とスケジュールについて	8
10.	期待される治療効果について	9
11.	安全性と副作用について	9
12.	遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について	11
13.	外国での状況について	12
14.	患者さんの権利と義務ならびに注意点について	13
15.	治療に関わる諸経費について	14
16.	遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて	14
17.	同意の撤回について	14
18.	同意撤回後の資料取り扱いについて	15
19.	個人情報の保護について	15
20.	緊急連絡先および質問の問い合わせ先について	16
21.	遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制	16

最終頁 「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書」

「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書」

# 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

## 説 明

### 1. はじめに

私たちは、がん細胞に遺伝子を入れて、その働きでがん細胞の増殖を抑えたり、がん細胞を死滅させることで治療効果を得る遺伝子治療臨床研究（以下「臨床研究」と略します）を考えています。これから、この臨床研究で行われる前立腺がんの遺伝子治療の仕組み、期待される効果、安全性、予想される副作用などについてご説明いたしますので、この臨床研究に被験者（患者）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。

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いたしますし、わからない点があれば何度でも説明いたします。

このような臨床研究に参加される方の人権を守るため、あなたが臨床研究に参加することは、あくまでもあなたの自主性に基づいた自由意思によるものであることを前提として以下のことを約束します。

- a) 臨床研究に参加することを私たちがお勧めして、あなたが拒否された場合も、今後の治療には不利益を受けることは一切ないこと。
- b) 臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することが出来ること。

### 2. 臨床研究について

臨床研究（あるいは臨床試験）とは、新しく考え出された治療方法や薬物を患者さんのご協力を受けて投与することにより、実施の診療・治療の場で安全性や治療効果を検討することを言います。このような新しい治療法を一般的に実施し、広く患者さんが恩恵を受けることができるようにするためには、臨床研究を行い、安全性に問題がないか、そして治療効果があるかについて科学的な評価を受けなければなりません。

一般的に臨床研究は治療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段階（第一相試験）、第一相試験で定められた方法で治療を行い効果を調べる段階（第二相試験）、現在一般的に使われている治療や薬剤と比較する段階（第三相試験）に分けられます。これらの臨床試験を経て、十分な効果があることが科学的に証明され、かつ安全性に大きな問題がないと判断されたものが医薬品として認められます。

前立腺癌の遺伝子治療に限らず、遺伝子治療に関する臨床研究は、まだ研究段階の治療です。患者さんに行って、本当に効果があるかどうか、安全に行えるかどうか、わからないところもたくさんあります。今回、患者さんに紹介する臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的（主要エンドポイントと呼びます）とし、同時に治療の効果も調べることを目的としており（副次エンドポイントと呼びます）第一／第二相試験に相当すると考えられます。

### 3. あなたの前立腺がんについて

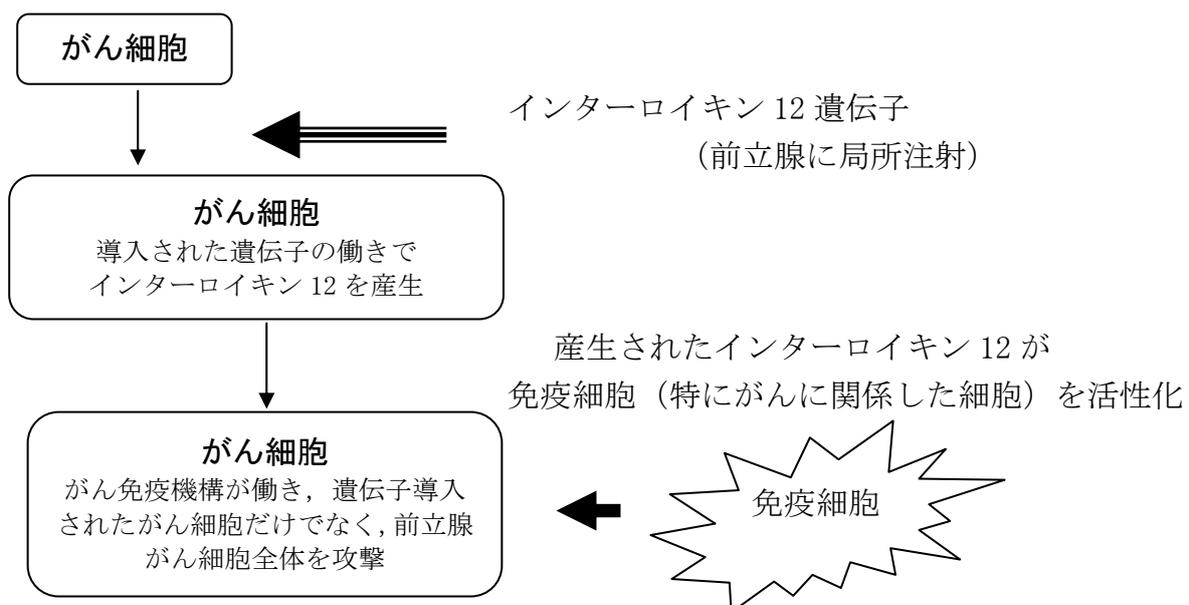
あなたの前立腺がんの治療には内分泌療法を行っていますが、腫瘍の増殖の程度を適切に反映する指標（腫瘍マーカー）である前立腺特異抗原（PSA）が徐々に上昇していきます。これは治療にもかかわらず前立腺がんが進行しつつある兆候です。このまま、あなたの前立腺がんが進行すると、半数以上の確率で骨転移に伴う痛みや前立腺の腫大に伴う排尿困難ならびに血尿の出現が予測されます。

あなたのような状態の患者さんに対する遺伝子治療以外の治療法としては、前立腺に放射線を照射することや抗癌剤による治療が行われています。しかし、放射線治療を行っても2年以内に約75%の確率で再発が認められます。抗癌剤治療では、ドセタキセルが無作為化比較試験によって2-3ヶ月ではあるものの明らかな生存期間の延長が認められる薬剤として位置付けられています。しかし日本において保険適応となっていない問題があります。現在日本で保険適応となっている抗癌剤では明らかな予後の改善を認める薬剤がなく、また70%以上の確率で嘔吐、脱毛といった副作用が出現する問題があり、決定的な治療法がないのが現状です。

#### 4. 遺伝子治療臨床研究の概要について

私たちの計画している遺伝子治療は、白血球から産生されるタンパク質の1つであるインターロイキン12の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がん細胞に導入します。インターロイキン12の遺伝子を腫瘍内に投与することによって、腫瘍細胞がインターロイキン12のタンパクを産生し、このタンパクによって活性化された免疫細胞が遺伝子を投与した腫瘍細胞を攻撃することが期待されます。さらに、がん細胞特異的な免疫機構が活性化され、遺伝子を直接投与していない病変も攻撃することが期待されます。また、腫瘍組織内にベクターを直接投与する方法は血管内に投与する方法に比較して安全性が高いことが予測されます。

図1 インターロイキン12遺伝子導入による抗腫瘍効果の説明



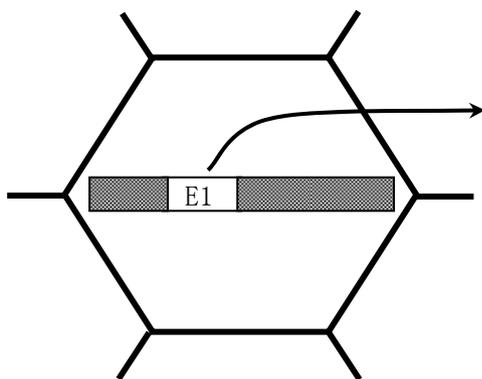
#### 5. アデノウイルスベクターについて

遺伝子を細胞の中に入れるためには、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のために、アデノウイルスをベクターとして使います。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インターロイキン 12 遺伝子を組み込んで、これをがん細胞に注射します。アデノウイルスベクターはがん細胞に感染し、インターロイキン 12 遺伝子ががん細胞の中に持ち込まれますと、タンパク質であるインターロイキン 12 が作られるようになります。このインターロイキン 12 のはたらきでがん免疫機構が体内で活性化され、前立腺がん細胞を攻撃するようになります。このがん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。

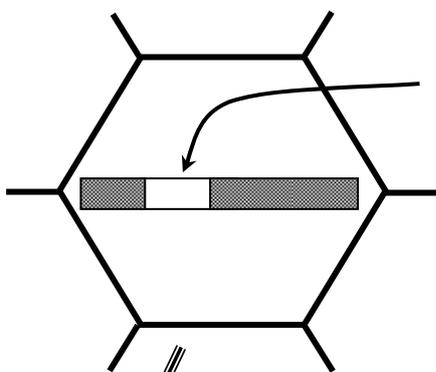
図2 アデノウイルスベクター・システムの説明

野生型アデノウイルス



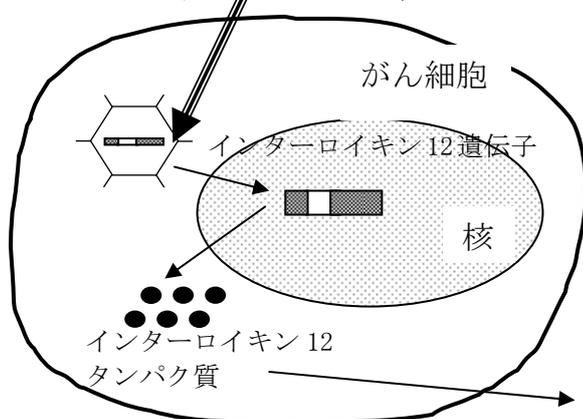
1) 自然のアデノウイルス（野生型）は幼児の「かぜ」を起こすウイルスの一つですが、遺伝子治療に用いるアデノウイルスベクターではウイルスが投与された身体の中で増えることが出来ないよう、増殖に関する遺伝子（E1）を取り除いてあります。この処置は治療用のウイルス（ベクター）を作製する段階で行われます。

アデノウイルスベクター



インターロイキン 12 遺伝子

2) このアデノウイルスベクターにインターロイキン 12 遺伝子が組み込まれます。



このアデノウイルスベクターはがん細胞に感染し、取り込まれたインターロイキン 12 遺伝子の働きで、インターロイキン 12 タンパク質が作られるようになります。

細胞外にインターロイキン 12 たんぱく質が放出

## 6. 臨床研究の目的について

これまでの研究によって、インターロイキン 12 遺伝子を導入する遺伝子治療は、導入されたがん細胞から産生されたインターロイキン 12 タンパク質によって体内の免疫細胞が活性化され、がん細胞が攻撃されることが明らかになりました。マウスを使った動物実験では、前立腺に移植されたマウスの前立腺がんに対して治療効果があることが明らかになり、さらに前立腺だけでなく肺にも同時にがん細胞を移植されたマウス動物実験転移モデルにおいて、前立腺にインターロイキン 12 遺伝子を導入することによって前立腺だけでなく、肺の病変部にも治療効果があることが明らかになりました。また安全性を評価するためにアデノウイルスベクターをマウス前立腺に投与し、その広がりを解析した動物実験では、解剖学的に隣接する臓器にのみアデノウイルスベクターが認められるものの、全身的な広がりを示唆する結果は認められませんでした。このような結果から実際の患者さんの治療にも安全かつ効果があるという合理的な見通しが成り立つものと考えています。そこでいよいよ実際の患者さんについて、その効果と安全性を確かめる段階となりました。

今回の臨床研究の目的は、このインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合、副作用をおこすことなく投与できるかどうか、また患者さんのがんが縮小したり増殖が止まったりするかどうかを明らかにすることにあります。

私たちはこの臨床研究に参加していただく患者さんの前立腺がんが小さくなったり、増殖が止まったりすることを期待しています。しかし、この臨床研究はまだ始まったばかりであり、はっきりとした臨床効果を期待するのはこれからのことなのです。今回の臨床試験の主要な目的はインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合の安全性を確認することにあります。そのため、投与するアデノウイルスベクター用量は低い用量から開始します。そのため用量が低すぎることも予測され、がんが縮小したり増殖が止まったりする臨床効果がみられないことも想定されますし、臨床効果が認められないにもかかわらず副作用が出現する可能性もあることをご理解ください。

## 7. 臨床研究の進め方について

この臨床研究では、インターロイキン 12 遺伝子を持つ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と治療効果を確認するために、投与量を段階的に増やしながらか進めます。

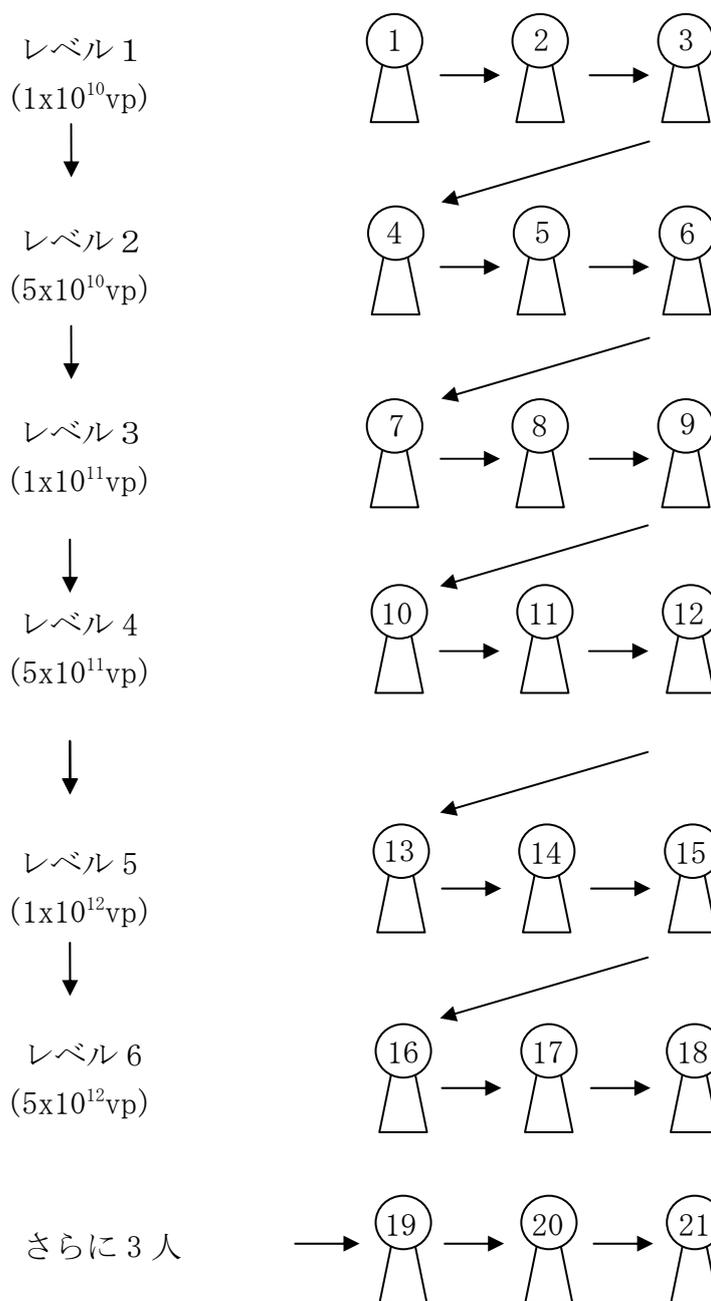
まず  $1 \times 10^{10}$  vp (viral particle) のアデノウイルスベクターを 3 人の患者さんに投与して、副作用とがんに対する効果の有無を調べます (レベル 1)。この治療で重い副作用が認められなければ、次の 3 人の患者さんには 5 倍増量したアデノウイルスベクター ( $5 \times 10^{10}$  vp) が投与されます (レベル 2)。重い副作用が認められない場合には投与量をさらに 2 倍 ( $1 \times 10^{11}$  vp) 増やすように段階的に進め (レベル 3)、最終的には予定しています最大投与量 ( $5 \times 10^{12}$  vp) で 3 人の患者さんの治療を行います (レベル 6)。重い副作用が認められなければ、最大投与量での安全性と効果を確認するためにさらに 3 人の患者さんの治療を行います。したがって計画通りに進めば合計 21 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。その場合、安全に投与できる最大投与量を決定するために、そのレベルでの患者さんの数を増やして検討することとなります。

あなたに予定されている投与量はレベル（ ）であり（ ）vpとなります。

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



### 8. 適応判定について

この臨床研究の対象となるのは、前立腺全摘出術を行えないことから内分泌療法が行

われているにもかかわらず、腫瘍マーカーの前立腺特異抗原（PSA）の値が上昇しつつある方（転移のある場合と、無い場合），ならびに前立腺全摘出術後に、局所再発もしくは転移を認め内分泌療法が行われているにもかかわらず PSA の値が上昇した方です。前述したように、インターロイキン 12 は体内の免疫機構を活性化させるため、インターロイキン 12 遺伝子を導入した前立腺局所のみならず転移巣にも効果があると考えられます。

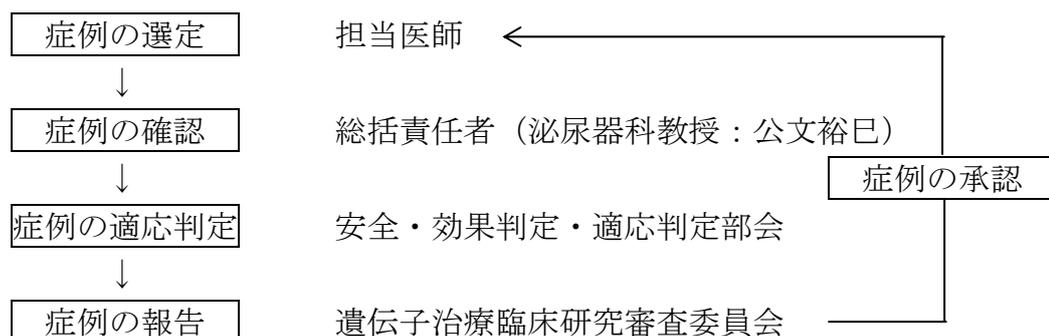
担当医師によりこの臨床研究の適応症例に該当すると判断された場合、あなたの病歴、全身状態を含めた検査結果は岡山大学病院の本臨床研究審査委員会の中にある安全・効果評価・適応判定部会に提出されます（図 4）。この部会にてあなたが遺伝子治療を受けるに適切であると判断され、そしてあなたが同意書に自署又は捺印をして遺伝子治療を受けることに同意されますと、治療が開始されることとなります。

また、インターロイキン 12 遺伝子治療が開始された後も、今まで投与されてきた LH-RH アゴニストが引き続き投与されることをご理解ください。この理由として、LH-RH アゴニストを中止することで前立腺がん細胞の増殖が刺激され、がんの病勢が悪化することが知られており、患者さんへの不利益を最小限に抑えることを目的としています。

研究に参加いただける患者さんの医学的な条件は以下の通りです。

- 1) 前立腺がんを有していること。
- 2) 年齢は 20 歳以上で上限はないが、医学的に本臨床研究を行うために十分な身体的機能を有すると判断されること。
- 3) 内分泌療法が行われているにもかかわらず、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA）が有意に上昇（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、最終的に PSA 値が 4.0ng/ml 以上）していること。
- 4) 現在無症状であるか、あるいは症状があっても歩行可能か、ベットにいるのが一日の半分以下であること。
- 5) 骨髄機能、肝機能、腎機能、心機能、肺機能に重い障害がないこと。
- 6) コントロールされていない活動性感染症など、重篤な併発疾患がないこと。
- 7) 本臨床研究参加 6 ヶ月以内に未承認薬の臨床試験（治験も含む）に参加していないこと。
- 8) 前立腺癌以外の悪性腫瘍歴がないこと。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ありません。

図 4 適応判定の過程の流れ



## 9. 遺伝子治療の方法とスケジュールについて

### (1) 遺伝子の導入

アデノウイルスベクターの注入は、岡山大学病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて腰椎麻酔を施行し、肛門から超音波を発信する器械を挿入して、前立腺を観察しながら針を刺してがん病巣に直接アデノウイルスベクターを 1 ないし 2 カ所（最大 2 カ所）に注射します。注入後、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去します。また感染症予防のため、治療後 3 日間の抗生剤投与を行います。

### (2) 遺伝子導入後の管理

遺伝子を注入したあと、原則として個室に入院していただきます。これは、遺伝子の乗り物であるウイルスベクターが尿などに混ざって体外に排出され、それが他の人に感染することを防ぐため、これを回収することを主な目的としています。血液や尿の中にベクターが混ざらなくなったことを検査によって確認した後（遺伝子を注射したあとおよそ数日間と考えています）は、自由にお部屋の出入りができるようになります。

### (3) アデノウイルスベクターの投与回数

アデノウイルスベクターの注射後 4 週間、副作用の有無を調査し、重篤な副作用が認められなければ 2 回目のアデノウイルスベクターを注射し、基本的には 3 回のアデノウイルスベクターの注射を行います。

### (4) アデノウイルスベクター注入後のスケジュール

アデノウイルスベクター注入後は、副作用およびベクターの体内での濃度を調べる必要があり、2 日毎に採血・採尿を行います（注：投与 3 日後までは連日採血を行います）。ベクター注入後、尿中ならびに血液中にアデノウイルスベクターが検出されなくなるまで個室隔離とし、専用の着衣の着用が義務づけられます。また排泄物、着衣や病室内も消毒等が実施されます。3 回のアデノウイルスベクターの注射終了後に組織検査、コンピューター断層撮影（CT）、核磁気共鳴画像診断（MRI）などによって治療効果判定を行います。

入院の期間については治療中の健康状態、居住地により適宜相談し判断させていただきますが、遺伝子を注入して一週間はかならず入院していただくことになります。

以下に検査の項目とスケジュールを示します。

採血させていただく血液の量についてもスケジュール表に記載していますが概ね一回あたり 20-30ml です。

①安全性の評価に関する検査項目ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1日後	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与+4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと5年 目まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与+4週後をさす	
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する			○	○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分画を 含む)	○	2日毎に観察		○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察		○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリアランス	○						○		
出血・凝固時間	○						○		
PT, PTT, fibrinogen	○						○		
尿沈渣	○	○		○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○	○					○		
アデノウイルス中和抗体測定	○	○		○	○	○	○	○	○
アデノウイルスベクター の同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察			○	○	○		
心電図	○			○			○	○	○
胸部レントゲン	○	○					○	○	○
排尿状態 (Uroflowmetry, AUAscore)	○*	○*			○*	○*	○*	○*	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	10.2	14	8.2	8.2

\*前立腺内注入例または前立腺全摘出術後の局所再発例に実施

②治療効果判定に関する検査ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1, 2, 3, 5 日	7日 後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与+4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと 5年目まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与+4週後をさす	
PSA	○			○	○	○	○	○	○
血液中リンパ球サブセット	○	○	○	○	○	○	○	○	○
NK細胞活性	○		○	○	○	○	○	○	○
血清サイトカイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清CTL誘導ペプチドに対 する特異的IgG抗体	○				○	○	○	○	○
HLA-Aタイピング	○								
経直腸的超音波検査 (注)	○						○	○	○
前立腺生検または 組織生検	○	○*					○		○ (1年毎) **
骨シンチ	○						○	○	○
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○						○	○	○
前立腺部MRI (注)	○						○	○	○
腹部、骨盤部CT	○						○	○	○
採血量(ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5

E) : 前立腺全摘除例については吻合部の検査を行う

\* : 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合48-72時間後に実施 (遺伝子発現解析)

\*\* : 同意を得られた患者に対して治療終了1年後より1年毎に施行予定 (組織学的治療効果判定)

<前立腺生検について>

- 主治医が医学的に可能と判断し、同意がえられたならば、治療部位に実際に遺伝子が入っているかどうかを調べるために第一回目の治療を行った 48-72 時間後に実施します。しかし短期間に 2 回前立腺に針をさすこととなりますので、体に負担がかかることもありますので、体の状態を十分考慮して実施するかどうか決めます。以前、同様の研究において 3 名の方に実施しましたが特に副作用等は認めておりません。
- もし同意がえられたならば、治療効果を判定するために前立腺の生検を治療をはじめて12週後、(後で説明するように12週後も治療を継続した場合は治療中12週ごと)、治療が終了した1年後より1年毎に5年間実施してがん細胞の有無、変化などを調べます。方法はいままで受けてこられた方法と同じです。

#### (5) 退院後のスケジュール

本臨床研究終了後、岡山大学病院では少なくとも投与後 60 ヶ月の追跡調査を行う予定であることをご承知置き下さい。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、試験終了後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。検査の内容、時期については今まで受けてこられた血液検査、画像検査、組織検査を先ほどのスケジュールに沿って予定します。

#### (6) 治療の継続について

治療効果によって病状の悪化が認められず、病状が改善もしくは不変と判定された場合、治療を引き続き続行することが可能です。この効果判定は腫瘍マーカーである PSA または CT などによる画像検査での判定となります。PSA が治療前に比べて上昇していないか、もしくは画像検査によって病変部が増大しておらず、新病変も認めない場合が該当します。追加投与について患者さんの了解が得られた場合、それまでの治療に関するデータを含めて追加投与の申請書を適応判定部会に提出します。この部会において治療を続行することが適切であると判断され、そして患者さんが同意書に自署又は捺印をして追加の遺伝子治療を受けることに同意されますと、追加治療が開始されることとなります。また投与を継続する場合は、アデノウイルスベクター3 回目の投与 28 日後スケジュールに沿って安全性・効果に関する諸検査を実施しその後速やかに総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い、さらなる追加投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価します。追加投与回数の上限はありませんが、安全性の問題や患者さんから中止の申し出があった場合には投与を中止いたします。

また遺伝子治療継続中に、同じ患者さんへ投与されるアデノウイルスベクター量は増量できません。さらに遺伝子治療後、継続治療を行わず外来で経過観察されている中で、再び本臨床研究を受ける希望がある場合は、本臨床研究における 2 重登録とみなされるため、お受けできないことをご了承ください。

### 10. 期待される治療効果について

具体的な効果としては、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA) が下降したり、上昇が止まることです。また、排尿困難や血尿を自覚されている場合には、がんにより腫大した前立腺が縮小することにより、これら症状が改善されることが期待されます。

### 11. 安全性と副作用について

#### 1) インターロイキン 12 の安全性

インターロイキン 12 を投与する方法としては遺伝子を投与する方法と、遺伝子から作られたタンパク質そのものを投与する方法があります。またそれぞれを点滴や静脈注射で全身に投与する方法、皮下注射、癌病巣に直接注射する方法があります。これらの投与方法により副作用の出現の仕方が異なるためその点について詳しく述べます。

インターロイキン 12 は以前より癌に効果のある薬剤として注目されていました。1995 年インターロイキン 12 遺伝子より作られるインターロイキン 12 タンパク質の効果を調べる研究が腎臓の癌を対象として米国でおこなわれました。この試験はインターロイキ

ン12タンパク質を点滴にて5日間連続で全身に投与する方法にておこなわれましたが、2名の患者さんが大腸における潰瘍からの出血、多臓器不全、壊死性肺炎といった重篤な副作用で死亡するという事故が起きました。これは実際の投与を行う2週間前に一度テスト投与を行い様子を見て安全性を確認してから投与する方法をおこなわなかったためと判明しました。

その後、点滴で全身に投与する方法は中止され、悪性リンパ腫を対象に皮下注射をおこなうことがおこなわれ副作用は低く抑えられるようになりました。副作用としては発熱、倦怠感、頭痛、悪寒、筋肉痛、一時的な血液検査の異常（好中球、リンパ球減少、血清トランスアミナーゼ、ビリルビンの上昇）が認められました。評価可能症例9例中5例において完全もしくは部分寛解が認められており、一定の治療効果が得られました。

さらに安全かつ効果的な方法としてインターロイキン12遺伝子を癌そのものに注入することで、腫瘍局所にインターロイキン12タンパク質が発現し、インターロイキン12タンパク質が全身的に広がらない方法が考案され研究されました。これが今回予定している遺伝子治療です。

## 2) アデノウイルスベクターの安全性

インターロイキン12遺伝子をがん細胞の中に入れるために、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のためにアデノウイルスをベクターとして使います。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に、ウイルスの一部を欠損させる操作をしています。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能力のあるアデノウイルスが混入することは避けられません。

我々が使用するインターロイキン12遺伝子を持つアデノウイルスベクターは、米国のベイラー医科大学によって製造および検査され、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の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。先にも述べたようにアデノウイルスは、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。

しかし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。この原因は、肝臓の血管内に高濃度のベクターを注入したために引き起こされたと考えられています。米国ベイラー医科大学で行われた単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを用いた前立腺癌遺伝子治療において1例で肝機能障害が認められました。この症例ではアデノウイルスベクターを注入する針が前立腺から外れて周囲の静脈に刺入し、血液内にベクターが流れ込んだ疑いが示唆されました。このために私たちは血管内に誤って投与することなく確実に前立腺内への注入が出来るような装置を使用します。すでに私たちは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを使って前立腺に直接投与する遺伝子治療臨床研究を同様の装置を使用して実施しましたが、確実に前立腺内に投与できることを確認しており重篤な副作用は認めておりません。ただし、米国ベイラー医科大学での単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれ

たアデノウイルスベクターによる前立腺癌遺伝子治療では、20%に一過性の発熱などの副作用が認められています。

### 3) アデノウイルスベクターの投与方法による副作用

アデノウイルスベクター液は、超音波診断装置を肛門から挿入して前立腺を観察しながら直腸粘膜を通してがん病巣に直接注射します。針の刺し方は、あなたが今までに行ったことのある前立腺針生検と同じ方法です。ベクター注入後は原則として一晩、膀胱にカテーテルを留置し、翌朝に抜去します。まれに出血、感染などの合併症が起こりますが、通常は軽度のものが一時的に起こるだけで治療により軽快します。緊急処置を必要とするような激しい出血は非常にまれですが、万一この様なことが起こった場合には適切に処置を致します。また、感染を予防するために抗菌薬を使用します。抗菌薬の使用によって発疹などのアレルギー反応が生じることがありますが、点滴ならびに解毒薬によって改善します。麻酔は腰椎麻酔で行いますが、腰椎麻酔後に頭痛などの副作用が起きることがあります。治療後から翌朝までベッド上安静を保つことで予防できますし、もし頭痛が生じた場合でも点滴を行うことによって症状は改善されます。

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しか行われていないため、予想されない問題が起こるかも知れません。あなたの病状については、本臨床研究の担当医師以外に、さきの安全・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時には、私たちは全力でそれに対処しますが、治療を中止する場合もあることを、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させていただきます。

## 1 2. 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について

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づかれたときは、担当医師や看護師にすぐに申し出て下さい。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有害事象が発見された場合には、まずあなたにお知らせし、その上で適切な治療を行います。岡山大学病院は、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します。また本臨床研究による治療が原因で生じたいかなる有害事象に対しても、公費にて全額負担いたします。ただし、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または肉体的な不利益に対する補償をすることは出来ません。

## 1 3. 外国での状況について

### (1) インターロイキン 1 2 遺伝子治療

インターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを用いた前立腺がんに対する遺伝子治療は米国ベイラー医科大学でも開始されました。平成 19 年 6 月までに 4 名の患者さんに遺伝子治療が実施され、今のところ副作用は認められていないと報告をうけていますが、長期的に見た安全性と治療効果に関する情報は無いのが現状です。以下に岡山大学における本臨床研究との比較表を示します。

研究名	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学	
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)	
実施症例	未実施	4 名 (平成 19 年 6 月現在)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター		
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室 (同一の構造、方法にて製造)		
遺伝子	インターロイキン 1 2 遺伝子		
ベクター投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp	
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp	
対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B, C, D	B, C, D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準 3 人 (最大 6 名) 標準 21 人 (最大 36 名)	各レベル標準 3 人 (最大 5 名) 標準 21 人 (最大 35 名)
注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺	
治療としての位置付け	局所および全身治療		

また本臨床研究と同様にインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については、進行消化器癌を対象とした第 1 相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認されました。また有効性に関しては 21 例中 1 例に部分寛解が認められ、10 例に病状の安定化が認められています。

## (2) インターロイキン 1 2 遺伝子以外の遺伝子治療

単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターと抗ウイルス剤であるガンシクロビルを用いた前立腺がんの遺伝子治療臨床試験 (第一相臨床試験) は、米国ベイラー医科大学で 1996 年 8 月から開始され 1998 年 4 月に終了しました。放射線治療後再燃してきて臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象として 18 人の前立腺がん患者さんに治療が行われ、安全性に関するいくつかの情報が得られています。ここでは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた前立腺がん

の遺伝子治療臨床試験に関する情報について述べたいと思います。

ベイラー医科大学から米国食品医薬品庁（FDA）に提出された報告ならびに公表されました論文によりますと、副作用については 17 人目までの患者さんにおいて発熱が 3 名、肝機能障害が 3 名、静脈注射部位の痛みを伴った腫れ（蜂窩織炎）が 1 名に認められています。これらの副作用は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で軽快しています。しかし 18 人目の患者さんにおいて、最高用量である  $1 \times 10^{11}$  IU (infection unit) のウイルスベクターが投与された後に軽度の発熱、高度の血小板減少と肝機能障害が出現したため、その時点で試験は中止されました。なお、本患者さんの血小板減少、肝機能障害は可逆的でありガンシクロビル投与開始 16 日目に正常値に回復しました。

上記の 18 名の患者さんを対象とした臨床研究の結果をもとに、米国食品医薬品庁（FDA）の許可の下、さらに 18 名の患者さんが  $1 \sim 3 \times 10^{10}$  IU のウイルスベクター量にて同様の治療を受けましたが、軽度の発熱ならびにかぜの症状を約 20% に認めたものの、重篤な副作用は認められませんでした。岡山大学ではベイラー医科大学より提供された単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターを用い、内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象とし、アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後抗ウイルス剤であるガンシクロビルを全身投与する臨床研究を実施しました。本研究は 2001 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、2006 年 7 月に最終登録例である 9 例目の被験者の治療を実施し、6 ヶ月以上観察し臨床試験を終了としています（8 名のべ 9 症例）。9 症例すべてにおいて有意な副作用を認めませんでした。治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例において低下し、安全性および治療効果が確認されました。

今回、私たちが計画している臨床研究では、ベイラー医科大学より提供されたインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを使用して、治療を行う予定です。前述したように米国食品医薬品庁（FDA）によって、野生型アデノウイルスの混入の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。

#### 1 4. 患者さんの権利と義務ならびに注意点について

人権にかかる重要なことがらは最初に説明しましたが、念のためにもう一度以下のことを申し上げますので確認して下さい。

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、あるいは一度同意した後に、その同意を撤回して治療中止の申し出をされても、その後の治療でああなたが何ら不利益を受けないことを保証いたします。臨床研究の参加に同意されても、医療訴訟を提起されることや人権が制約されることはありません。

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岡山大学病院、あるいはそれと密接な関連を持つ医療施設（担当医師からお知らせします）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）あるいはコンピューター断層撮影（CT）を行います。なお、不幸にして何らかの原因でお亡くなりになった場合には、治療の効果を確認するために病理解剖にご協力下さいますようお願いいたします。

また注意していただきたい点として、本臨床研究実施中に他院・他科の診察を受ける場合には本遺伝子治療臨床研究を受けている旨を必ず他院・他科の担当医に報告し、本遺伝子治療臨床研究の担当医にも必ず報告してください。また他院・他科で処方された薬や、あなた自身が薬局で購入した薬がある場合、可能な限り服用前に本遺伝子治療臨床研究担当医に相談するとともに、服用後は必ず本遺伝子治療臨床研究担当医に報告してください。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様をご希望されるかたは、その旨担当医にご相談ください。今回使用するアデノウイルスベクターがあなたの精液に一時的に混ざる可能性は極めて低いものと思われませんが、完全に否定はできません。そのため臨床研究実施期間中はコンドームを使った避妊を行う必要があります。

#### 15. 治療に関わる諸経費について

本臨床研究にかかわる入院中の一切の治療・検査経費に関しては岡山大学病院の公費ならびに研究費でまかなわれますので、あなたへの金銭的負担は発生しません。治療後の検査の場合、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となりますが、本臨床研究に特有の検査についてはすべて岡山大学病院の公費ならびに研究費で負担いたします。したがって、この臨床研究に参加することによって、今まで以上に余分なお金を負担していただくことはありません。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には、これまでどおり公的医療保険が適応され、その医療費にかかる一部負担金等は負担していただきます。

#### 16. 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて

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に関する指針」の規定に従って、岡山大学病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会、厚生科学審議会科学技術部会ならびにがん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて、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臨床研究はこのような手続きを経て承認された臨床研究です。

#### 17. 同意の撤回について

臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することができます。同意を撤回された場合、その後の治療につ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。

同意の撤回に際しては、撤回することを担当医師に口頭で伝え、その後、確認のために所定の同意撤回書を提出していただきます。

#### 18. 同意撤回後の資料取り扱いについて

同意を撤回される以前のあなたの臨床経過や検査結果ならびに保管されている臨床検体については貴重な資料となりますので、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。

#### 19. 個人情報の保護について

(1) あなたの診療記録および同意書など、この遺伝子治療臨床研究に伴う診療記録や臨床データは、以下の法律等の規定に基づき、岡山大学病院医事課で保管し秘密を厳守します。得られた臨床データはこの臨床研究に利用する他、この研究の結果を医学雑誌や学会、厚生労働省およびその審議会に報告することがありますが、あなたの個人情報は保護されます。なお、利用目的に変更が生じた場合には、改めてご連絡させていただきます。

- ① 個人情報の保護に関する法律（平成15年5月30日法律第57号）
- ② 遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年3月27日文部科学省・厚生労働省告示第1号）
- ③ 国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程（平成17年3月24日施行）

(2) あなたは、この臨床研究により得られた、あなた自身が識別できる個人情報の開示を求めることができます。その際には、上記の指針・規定および「国立大学法人岡山大学の情報公開に関する規定」に照らし、開示の妥当性を判断します。患者さんが個人情報の開示を請求する場合は、無料といたします。ただし、実施にかかる手数料については、当院が定めた料金規程により納めていただきます。

(3) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合」には、訂正・追加または削除を求めることができます。訂正・追加または削除できない場合には、必要に応じてその旨を説明します。

(4) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合、本臨床研究の目的達成に必要な範囲を超えて利用されていると判断した場合あるいは不正の手段により個人情報が取得されたものと判断した場合」には利用の停止または消去を求めることができます。その際には、総括責任医師が内容を調査し、違反が判明した場合には必要な措置を講じるとともに、必要に応じてその旨を説明します。なお、利用の停止または消去ができない場合にも、必要に応じてその旨を説明します。

(5) 個人情報に関してあなたのご理解を深めていただくため、個人情報の保護に関する法律及び当病院の個人情報に関する院内規定を当病院のホームページ上に掲載しております (<http://www.uro.jp/okayama/index.html>)。また、個人情報の開示等に関する詳細な内容の照会や疑問等については、下記担当係にお問い合わせ願

ます。

○担当係： 岡山大学病院医事課患者支援係  
(電話 086-235-7205)

## 20. 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について

この臨床研究への参加者としてのあなたの権利や、研究に関連した障害などについて、何らかの問題や質問が生じたときには、岡山大学病院泌尿器科 (TEL 086-235-7287 または 086-235-7285, FAX 086-231-3986), または岡山大学病院総務課 (TEL 086-235-7507) にご連絡下さい。

## 21. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

### (1) 研究の名称

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究 (前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究)

### (2) 実施施設

岡山大学病院

連絡先：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学

TEL 086-235-7286

FAX 086-231-3986

### (3) 総括責任医師

公文裕巳 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学教授)

### (4) 試験担当医師

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分野准教授)

雑賀隆史 (岡山大学病院・泌尿器科講師)

賀来春紀 (岡山大学病院、遺伝子細胞治療センター助手)

江原 伸 (岡山大学病院・泌尿器科助教)

小林知子 (岡山大学病院・泌尿器科医員)

谷本竜太 (岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学大学院生)

## 前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。遺伝子治療臨床研究に参加することに同意します。また、上記臨床研究を行う上で必要な処置、及び上記臨床研究において予測されない状況が発生した場合、それに対応するための緊急処置を受けることも併せて同意します。

- はじめに
- 臨床研究について
- あなたの前立腺がんについて
- 遺伝子治療臨床研究の概要について
- アデノウイルスベクターについて
- 臨床研究の目的について
- 臨床研究の進め方について
- 適応判定について
- 遺伝子治療の方法とスケジュールについて
- 期待される治療効果について
- 安全性と副作用について
- 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について
- 外国での状況について
- 患者さんの権利と義務ならびに注意点について
- 治療に関わる諸経費について
- 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて
- プライバシーの保護について
- 同意の撤回について
- 同意撤回後の資料取り扱いについて
- 個人情報の保護について
- 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

以上の内容を証明するため、ここに署名、捺印いたします。

なお、私は前立腺生検の実施に、  同意いたします。  同意いたしません。

同意年月日 平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

説明をした医師及び説明日

平成 年 月 日

\_\_\_\_\_ (署名) \_\_\_\_\_ (印)

\_\_\_\_\_ (署名) \_\_\_\_\_ (印)

前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、研究協力を依頼され、同意書に署名しましたが、その同意を撤回する事を担当医師に口頭で伝え、確認のため、同意撤回書を提出します。

平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印）(印)

連絡先

家族あるいは親族（署名又は捺印）(印)

連絡先

患者さんとの関係

立会人（署名又は捺印）(印)

連絡先

患者さんとの関係

添付書類 12-2.

前立腺がん遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

②-1. 内分泌抵抗性転移性再燃前立腺癌（有転移症例）

# 目 次

1.	はじめに	2
2.	臨床研究について	2
3.	あなたの前立腺がんについて	3
4.	遺伝子治療臨床研究の概要について	3
5.	アデノウイルスベクターについて	4
6.	臨床研究の目的について	5
7.	臨床研究の進め方について	5
8.	適応判定について	6
9.	遺伝子治療の方法とスケジュールについて	8
10.	期待される治療効果について	10
11.	安全性と副作用について	10
12.	遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について	12
13.	外国での状況について	12
14.	患者さんの権利と義務ならびに注意点について	14
15.	治療に関わる諸経費について	14
16.	遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて	15
17.	同意の撤回について	15
18.	同意撤回後の資料取り扱いについて	15
19.	個人情報の保護について	15
20.	緊急連絡先および質問の問い合わせ先について	16
21.	遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制	16

最終頁 「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書」

「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書」

# 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

## 説 明

### 1. はじめに

私たちは、がん細胞に遺伝子を入れて、その働きでがん細胞の増殖を抑えたり、がん細胞を死滅させることで治療効果を得る遺伝子治療臨床研究（以下「臨床研究」と略します）を考えています。これから、この臨床研究で行われる前立腺がんの遺伝子治療の仕組み、期待される効果、安全性、予想される副作用などについてご説明いたしますので、この臨床研究に被験者（患者）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。

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いたしますし、わからない点があれば何度でも説明いたします。

このような臨床研究に参加される方の人権を守るため、あなたが臨床研究に参加することは、あくまでもあなたの自主性に基づいた自由意思によるものであることを前提として以下のことを約束します。

- a) 臨床研究に参加することを私たちがお勧めして、あなたが拒否された場合も、今後の治療には不利益を受けることは一切ないこと。
- b) 臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することが出来ること。

### 2. 臨床研究について

臨床研究（あるいは臨床試験）とは、新しく考え出された治療方法や薬物を患者さんのご協力を受けて投与することにより、実施の診療・治療の場で安全性や治療効果を検討することを言います。このような新しい治療法を一般的に実施し、広く患者さんが恩恵を受けることができるようにするためには、臨床研究を行い、安全性に問題がないか、そして治療効果があるかについて科学的な評価を受けなければなりません。

一般的に臨床研究は治療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段階（第一相試験）、第一相試験で定められた方法で治療を行い効果を調べる段階（第二相試験）、現在一般的に使われている治療や薬剤と比較する段階（第三相試験）に分けられます。

前立腺癌の遺伝子治療に限らず、遺伝子治療に関する臨床研究は、まだ研究段階の治療です。患者さんに行って、本当に効果があるかどうか、安全に行えるかどうか、わからないところもたくさんあります。今回、患者さんに紹介する臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的（主要エンドポイントと呼びます）とし、同時に治療の効果も調べることを目的としており（副次エンドポイントと呼びます）第一／第二相試験に相当すると考えられます。

### 3. あなたの前立腺がんについて

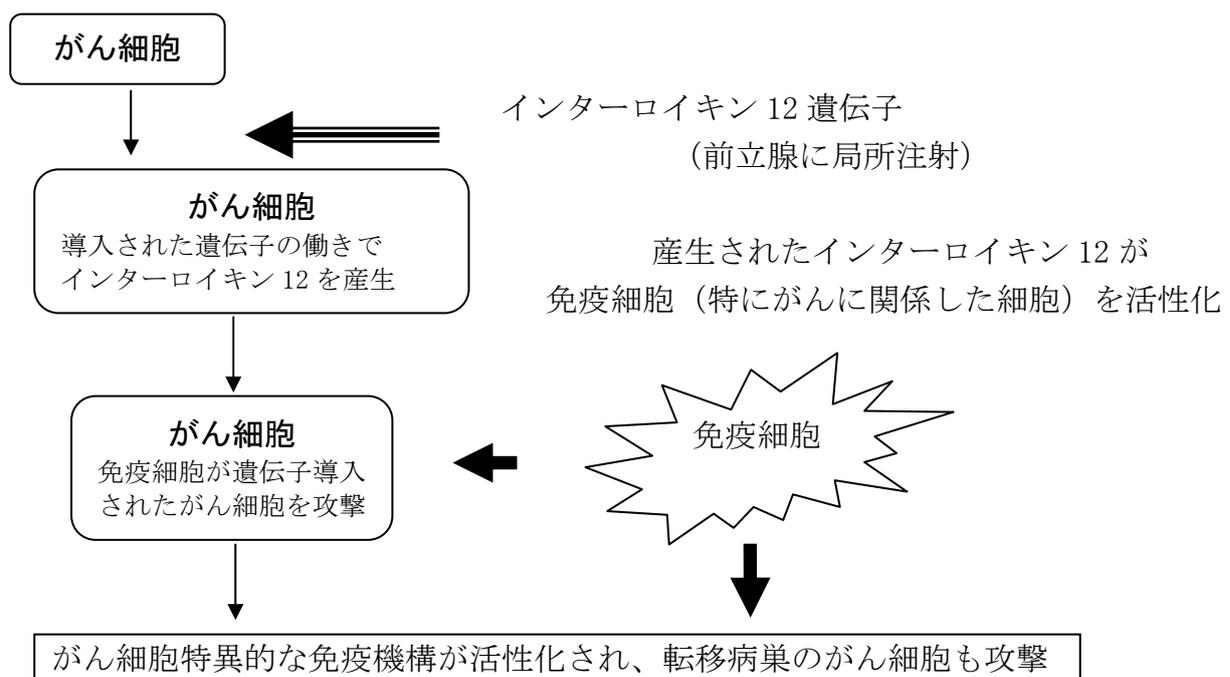
あなたの前立腺がんの治療には内分泌療法を行っていますが、腫瘍の増殖の程度を適切に反映する指標（腫瘍マーカー）である前立腺特異抗原（PSA）が徐々に上昇していきます。これは治療にもかかわらず前立腺がんが進行しつつある兆候です。このまま、あなたの前立腺がんが進行すると、半数以上の確率で骨転移に伴う痛みが出現または増強、新たな転移巣の出現、前立腺の腫大に伴う排尿困難ならびに血尿の出現が予測されます。

あなたのような状態の患者さんに対する遺伝子治療以外の治療法としては、放射線を痛みの場所に照射することや抗癌剤による治療が行われています。しかし、放射線治療を行っても痛みの緩和は期待できるものの、放射線を照射していない病巣の治療にはなっていません。抗癌剤治療では、ドセタキセルが無作為化比較試験によって2-3ヶ月ではあるものの明らかな生存期間の延長が認められる薬剤として位置付けられています。しかし日本において保険適応となっていない問題があります。現在日本で保険適応となっている抗癌剤では明らかな予後の改善を認める薬剤がなく、また70%以上の確率で嘔吐、脱毛といった副作用が出現する問題があり、決定的な治療法がないのが現状です。

#### 4. 遺伝子治療臨床研究の概要について

私たちの計画している遺伝子治療は、白血球から産生されるタンパク質の1つであるインターロイキン 12 の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がん細胞に導入します。インターロイキン 12 の遺伝子を腫瘍内に投与することによって、腫瘍細胞がインターロイキン 12 のタンパクを産生し、このタンパクによって活性化された免疫細胞が遺伝子を投与した腫瘍細胞を攻撃することが期待されます。さらに、がん細胞特異的な免疫機構が活性化され、遺伝子を直接投与していない病変や転移病巣も攻撃することが期待されます。また、腫瘍組織内にベクターを直接投与する方法は血管内に投与する方法に比較して安全性が高いことが予測されます。

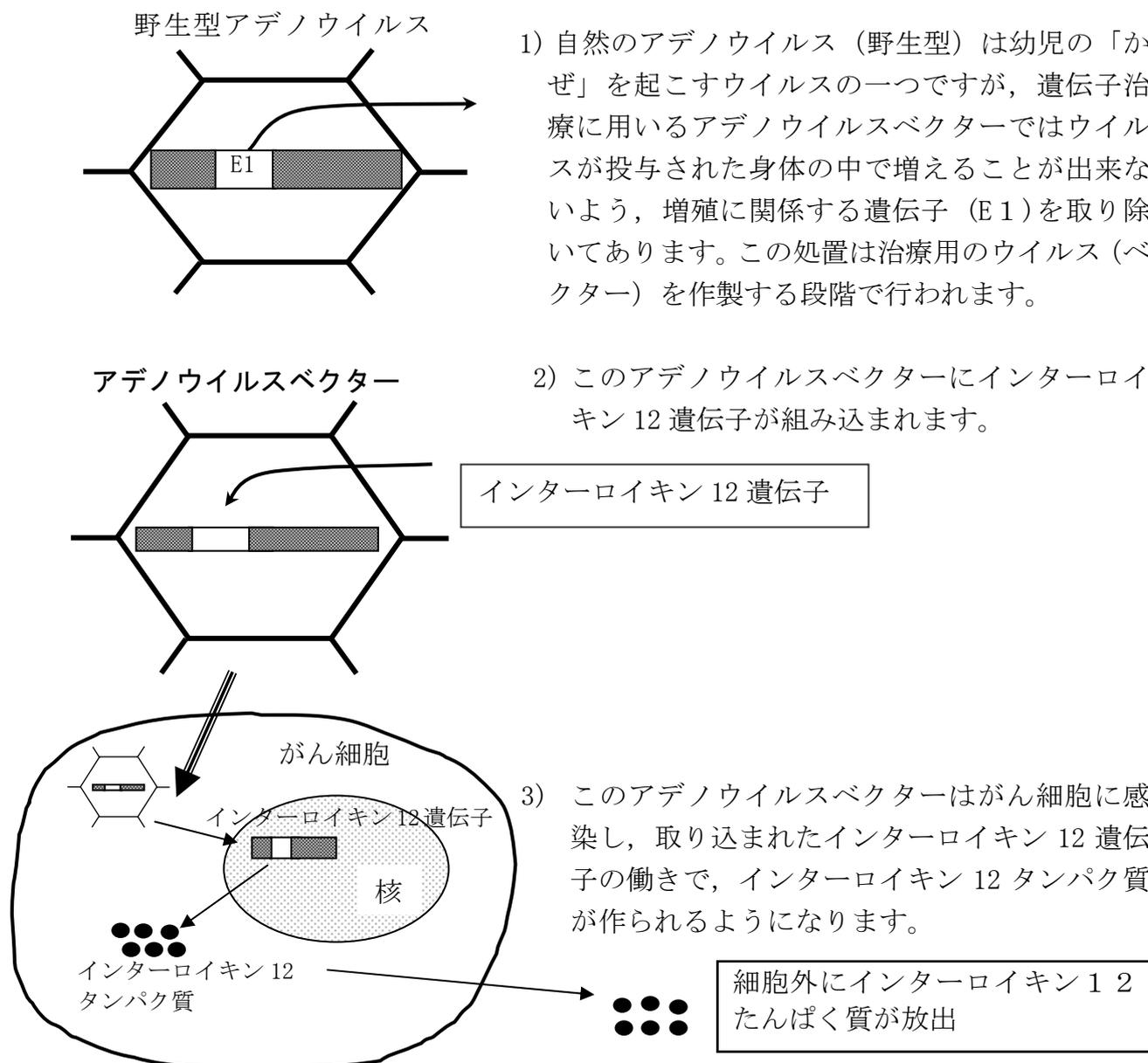
図1 インターロイキン 12 遺伝子導入による抗腫瘍効果の説明



## 5. 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、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のために、アデノウイルスをベクターとして使います。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インターロイキン 12 遺伝子を組み込んで、これをがんに注射します。アデノウイルスベクターはがん細胞に感染し、インターロイキン 12 遺伝子ががん細胞の中に持ち込まれますと、タンパク質であるインターロイキン 12 が作られるようになります。このインターロイキン 12 のはたらきでがん免疫機構が体内で活性化され、前立腺がん細胞を攻撃するようになります。このがん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。

図2 アデノウイルスベクター・システムの説明



## 6. 臨床研究の目的について

これまでの研究によって、インターロイキン 12 遺伝子を導入する遺伝子治療は、導入されたがん細胞から産生されたインターロイキン 12 タンパク質によって体内の免疫細胞が活性化され、がん細胞が攻撃されることが明らかになりました。マウスを使った動物実験では、前立腺に移植されたマウスの前立腺がんに対して治療効果があることが明らかになり、さらに前立腺だけでなく肺にも同時にがん細胞を移植されたマウス動物実験転移モデルにおいて、前立腺にインターロイキン 12 遺伝子を導入することによって前立腺だけでなく、肺の病変部にも治療効果があることが明らかになりました。つまり転移がある場合でも前立腺にインターロイキン 12 遺伝子を導入した際に、その効果が全身に波及し、転移にも効くことが証明されました。また安全性を評価するためにアデノウイルスベクターをマウス前立腺に投与し、その広がりを解析した動物実験では、解剖学的に隣接する臓器にのみアデノウイルスベクターが認められるものの、全身的な広がりを示唆する結果は認められませんでした。このような結果から実際の患者さんの治療にも安全かつ効果があるという合理的な見通しが成り立つものと考えています。そこでいよいよ実際の患者さんについて、その効果と安全性を確かめる段階となりました。

今回の臨床研究の目的は、このインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合、副作用をおこすことなく投与できるかどうか、また患者さんのがんが縮小したり増殖が止まったりするかどうかを明らかにすることにあります。

私たちはこの臨床研究に参加していただく患者さんの前立腺がんが小さくなったり、増殖が止まったりすることを期待しています。しかし、この臨床研究はまだ始まったばかりであり、はっきりとした臨床効果を期待するのはこれからのことなのです。今回の臨床試験の主要な目的はインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合の安全性を確認することにあります。そのため、投与するアデノウイルスベクター用量は低い用量から開始します。そのため用量が低すぎることも予測され、がんが縮小したり増殖が止まったりする臨床効果がみられないことも想定されますし、臨床効果が認められないにもかかわらず副作用が出現する可能性もあることをご理解ください。

## 7. 臨床研究の進め方について

この臨床研究では、インターロイキン 12 遺伝子を持つ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と治療効果を確認するために、投与量を段階的に増やしながら進めます。

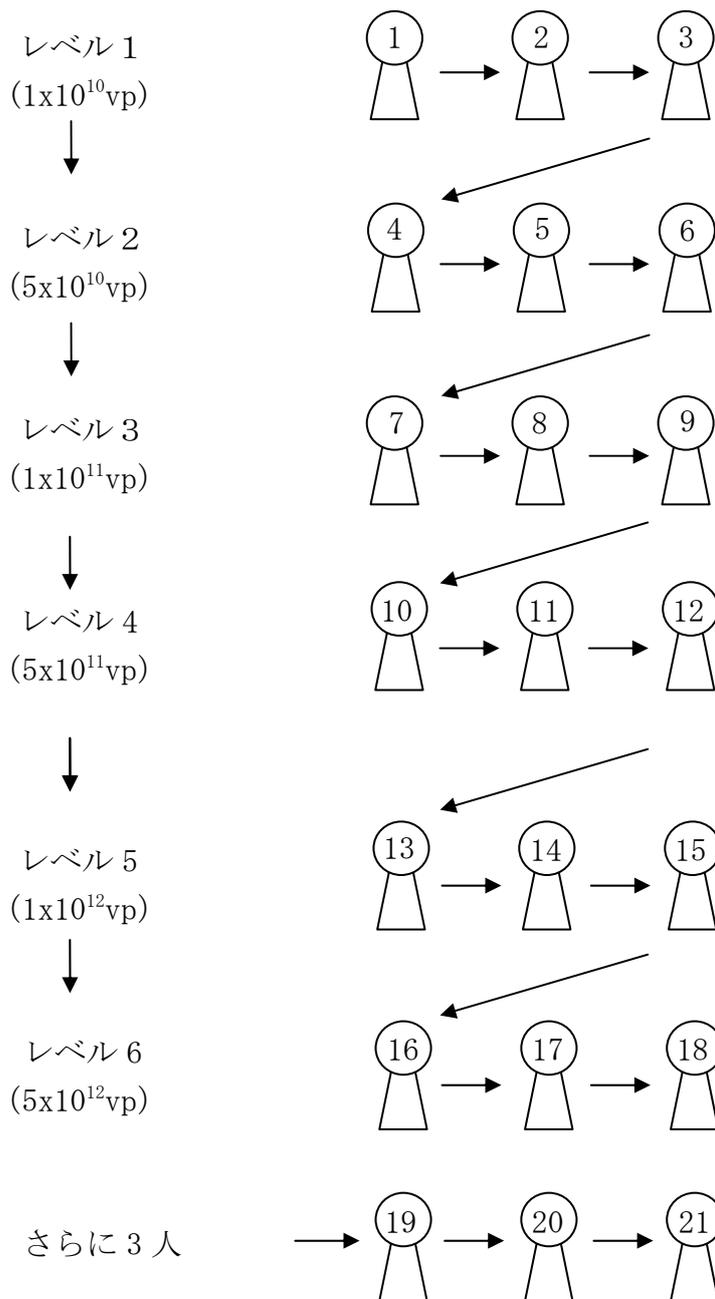
まず  $1 \times 10^{10}$  vp (viral particle) のアデノウイルスベクターを 3 人の患者さんに投与して、副作用とがんに対する効果の有無を調べます (レベル 1)。この治療で重い副作用が認められなければ、次の 3 人の患者さんには 5 倍増量したアデノウイルスベクター ( $5 \times 10^{10}$  vp) が投与されます (レベル 2)。重い副作用が認められない場合には投与量をさらに 2 倍 ( $1 \times 10^{11}$  vp) 増やすように段階的に進め (レベル 3)、最終的には予定しています最大投与量 ( $5 \times 10^{12}$  vp) で 3 人の患者さんの治療を行います (レベル 6)。重い副作用が認められなければ、最大投与量での安全性と効果を確認するためにさらに 3 人の患者さんの治療を行います。したがって計画通りに進めば合計 21 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。その場合、安全に投与できる最大投与量を決定するために、そのレベルでの患者さんの数を増やして検討することとなります。

あなたに予定されている投与量はレベル（ ）であり（ ）vpとなります。

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



### 8. 適応判定について

この臨床研究の対象となるのは、前立腺全摘出術を行えないことから内分泌療法が行われているにもかかわらず、腫瘍マーカーの前立腺特異抗原（PSA）の値が上昇しつつ

ある方（転移のある場合と、無い場合），ならびに前立腺全摘出術後に、局所再発もしくは転移を認め内分泌療法が行われているにもかかわらず PSA の値が上昇した方です。前述したように、インターロイキン 12 は体内の免疫機構を活性化させるため、インターロイキン 12 遺伝子を導入した前立腺局所のみならず転移巣にも効果があると考えられます。

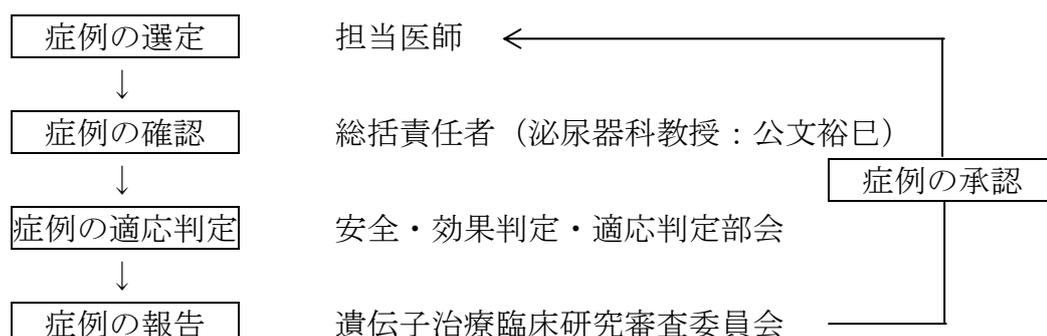
担当医師によりこの臨床研究の適応症例に該当すると判断された場合，あなたの病歴，全身状態を含めた検査結果は岡山大学病院の本臨床研究審査委員会の中にある安全・効果評価・適応判定部会に提出されます（図 4）。この部会にてあなたが遺伝子治療を受けるに適切であると判断され，そしてあなたが同意書に自署又は捺印をして遺伝子治療を受けることに同意されますと，治療が開始されることとなります。

また，インターロイキン 12 遺伝子治療が開始された後も今まで投与されてきた LH-RH アゴニストが引き続き投与されることをご理解ください。この理由として，LH-RH アゴニストを中止することで前立腺がん細胞の増殖が刺激され，がんの病勢が悪化することが知られており，患者さんへの不利益を最小限に抑えることを目的としています。

研究に参加いただける患者さんの医学的な条件は以下の通りです。

- 1) 前立腺がんを有していること。
- 2) 年齢は 20 歳以上で上限はないが，医学的に本臨床研究を行うために十分な身体的機能を有すると判断されること。
- 3) 内分泌療法が行われているにもかかわらず，腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA）が有意に上昇（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，最終的に PSA 値が 4.0ng/ml 以上）していること。
- 4) 現在無症状であるか，あるいは症状があっても歩行可能か，ベットにいるのが一日の半分以下であること。
- 5) 骨髄機能，肝機能，腎機能，心機能，肺機能に重い障害がないこと。
- 6) コントロールされていない活動性感染症など，重篤な併発疾患がないこと。
- 7) 本臨床研究参加 6 ヶ月以内に未承認薬の臨床試験（治験も含む）に参加していないこと。
- 8) 前立腺癌以外の悪性腫瘍歴がないこと。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ありません。

図 4 適応判定の過程の流れ



## 9. 遺伝子治療の方法とスケジュールについて

### (1) 遺伝子の導入

アデノウイルスベクターの注入は、岡山大学病院北病棟 3 階手術場無菌室内にて腰椎麻酔を施行し、肛門から超音波を発信する器械を挿入して、前立腺を観察しながら針を刺してがん病巣に直接アデノウイルスベクターを 1 ないし 2 カ所（最大 2 カ所）に注射します。注入後、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去します。また感染症予防のため、治療後 3 日間の抗生剤投与を行います。

### (2) 遺伝子導入後の管理

遺伝子を注入したあと、原則として個室に入院していただきます。これは、遺伝子の乗り物であるウイルスベクターが尿などに混ざって体外に排出され、それが他の人に感染することを防ぐため、これを回収することを主な目的としています。血液や尿の中にベクターが混ざらなくなったことを検査によって確認した後（遺伝子を注射したあとおよそ数日間と考えています）は、自由にお部屋の出入りができるようになります。

### (3) アデノウイルスベクターの投与回数

アデノウイルスベクターの注射後 4 週間、副作用の有無を調査し、重篤な副作用が認められなければ 2 回目のアデノウイルスベクターを注射し、基本的には 3 回のアデノウイルスベクターの注射を行います。

### (4) アデノウイルスベクター注入後のスケジュール

アデノウイルスベクター注入後は、副作用およびベクターの体内での濃度を調べる必要があります、2 日毎に採血・採尿を行います（注：投与 3 日後までは連日採血を行います）。ベクター注入後、尿中ならびに血液中にアデノウイルスベクターが検出されなくなるまで個室隔離とし、専用の着衣の着用が義務づけられます。また排泄物、着衣や病室内も消毒等が実施されます。3 回のアデノウイルスベクターの注射終了後に組織検査、コンピューター断層撮影（CT）、核磁気共鳴画像診断（MRI）などによって治療効果判定を行います。

入院の期間については治療中の健康状態、居住地により適宜相談し判断させていただきますが、遺伝子を注入して一週間はかならず入院していただくこととなります。

以下に検査の項目とスケジュールを示します。

採血させていただく血液の量についてもスケジュール表に記載していますが概ね一回あたり 20-30ml です。

①安全性の評価に関する検査項目ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1日後	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与+4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと5年 日まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与+4週後をさす	
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する			○	○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分画を 含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリアランス	○						○		
出血・凝固時間	○						○		
PT, PTT, fibrinogen	○						○		
尿沈渣	○		○	○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○		○				○		
アデノウイルス中和抗体測定	○		○	○	○	○	○	○	○
アデノウイルスベクター の同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○	○		
心電図	○			○			○	○	○
胸部レントゲン	○		○				○	○	○
排尿状態 (Uroflowmetry, AUAscore)	○*		○*		○*	○*	○*	○*	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	10.2	14	8.2	8.2

\*前立腺内注入例または前立腺全摘出術後の局所再発例に実施

②治療効果判定に関する検査ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1, 2, 3, 5 日	7日 後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与+4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと 5年日まで)
		各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与+4週後をさす
PSA	○			○	○	○	○	○	○
血液中リンパ球サブセット	○	○	○	○	○	○	○	○	○
NK細胞活性	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清サイトカイン	○	○	○	○	○	○	○	○	○
血清CTL誘導ペプチドに対 する特異的IgG抗体	○				○	○	○	○	○
HLA-Aタイピング	○								
経直腸的超音波検査(注)	○						○	○	○
前立腺生検または 組織生検	○	○*					○		○(1年毎)**
骨シンチ	○						○	○	○
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○						○	○	○
前立腺部MRI(注)	○						○	○	○
腹部、骨盤部CT	○						○	○	○
採血量(ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5

E) : 前立腺全摘除例については吻合部の検査を行う

\* : 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合48-72時間後に実施(遺伝子発現解析)

\*\* : 同意を得られた患者に対して治療終了1年後より1年毎に施行予定(組織学的治療効果判定)

<前立腺生検について>

- 主治医が医学的に可能と判断し、同意がえられたならば、治療部位に実際に遺伝子が入っているかどうかを調べるために第一回目の治療を行った48-72時間後に実施します。しかし短期間に2回前立腺に針をさすこととなりますので、体に負担がかかることもありますので、体の状態を十分考慮して実施するかどうか決めます。以前、同様の研究において3名の方に実施しましたが特に副作用等は認めておりません。
- もし同意がえられたならば、治療効果を判定するために前立腺の生検を治療をはじめて12週後、(後で説明するように12週後も治療を継続した場合は治療中12週ごと)、治療が終了した1年後より1年毎に5年間実施してがん細胞の有無、変化などを調べます。方法はいままで受けてこられた方法と同じです。

#### (5) 退院後のスケジュール

本臨床研究終了後、岡山大学病院では少なくとも投与後 60 ヶ月の追跡調査を行う予定であることをご承知置き下さい。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、試験終了後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。検査の内容、時期については今まで受けてこられた血液検査、画像検査、組織検査を先ほどのスケジュールに沿って予定します。

#### (6) 治療の継続について

治療効果によって病状の悪化が認められず、病状が改善もしくは不変と判定された場合、治療を引き続き続行することが可能です。この効果判定は腫瘍マーカーである PSA または CT などによる画像検査での判定となります。PSA が治療前に比べて上昇していないか、もしくは画像検査によって病変部が増大しておらず、新病変も認めない場合が該当します。追加投与について患者さんの了解が得られた場合、それまでの治療に関するデータを含めて追加投与の申請書を適応判定部会に提出します。この部会において治療を続行することが適切であると判断され、そして患者さんが同意書に自署又は捺印をして追加の遺伝子治療を受けることに同意されますと、追加治療が開始されることとなります。また投与を継続する場合は、アデノウイルスベクター3 回目の投与 28 日後にスケジュールに沿って安全性・効果に関する諸検査を実施しその後速やかに総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い、さらなる追加投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価します。追加投与回数の上限はありませんが、安全性の問題や患者さんから中止の申し出があった場合には投与を中止いたします。

また遺伝子治療継続中に、同じ患者さんへ投与されるアデノウイルスベクター量は増量できません。さらに遺伝子治療後、継続治療を行わず外来で経過観察されている中で、再び本臨床研究を受ける希望がある場合は、本臨床研究における 2 重登録とみなされるため、お受けできないことをご了承ください。

### 10. 期待される治療効果について

具体的な効果としては、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA) が下降したり、上昇が止まることです。また、排尿困難や血尿を自覚されている場合には、がんにより腫大した前立腺が縮小することにより、これら症状が改善されることが期待されます。

### 11. 安全性と副作用について

#### 1) インターロイキン 12 の安全性

インターロイキン 12 を投与する方法としては遺伝子を投与する方法と、遺伝子から作られたタンパク質そのものを投与する方法があります。またそれぞれを点滴や静脈注射で全身に投与する方法、皮下注射、癌病巣に直接注射する方法があります。これらの投与方法により副作用の出現の仕方が異なるためその点について詳しく述べます。

インターロイキン 12 は以前より癌に効果のある薬剤として注目されていました。1995 年インターロイキン 12 遺伝子より作られるインターロイキン 12 タンパク質の効果を調

べる研究が腎臓の癌を対象として米国でおこなわれました。この試験はインターロイキン 12 タンパク質を点滴にて 5 日間連続で全身に投与する方法にておこなわれましたが、2 名の患者さんが大腸における潰瘍からの出血、多臓器不全、壊死性肺炎といった重篤な副作用で死亡するという事故が起きました。これは実際の投与を行う 2 週間前に一度テスト投与を行い様子を見て安全性を確認してから投与する方法をおこなわなかったためと判明しました。

その後、点滴で全身に投与する方法は中止され、悪性リンパ腫を対象に皮下注射をおこなうことがおこなわれ副作用は低く抑えられるようになりました。副作用としては発熱、倦怠感、頭痛、悪寒、筋肉痛、一時的な血液検査の異常（好中球、リンパ球減少、血清トランスアミナーゼ、ビリルビンの上昇）が認められました。評価可能症例 9 例中 5 例において完全もしくは部分寛解が認められており、一定の治療効果が得られました。

さらに安全かつ効果的な方法としてインターロイキン 12 遺伝子を癌そのものに注入することで、腫瘍局所にインターロイキン 12 タンパク質が発現し、インターロイキン 12 タンパク質が全身的に広がらない方法が考案され研究されました。これが今回予定している遺伝子治療です。

## 2) アデノウイルスベクターの安全性

インターロイキン 12 遺伝子をがん細胞の中に入れるために、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のためにアデノウイルスをベクターとして使います。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に、ウイルスの一部を欠損させる操作をしています。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能力のあるアデノウイルスが混入することは避けられません。

我々が使用するインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターは、米国のベイラー医科大学によって製造および検査され、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の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。先にも述べたようにアデノウイルスは、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。

しかし 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。この原因は、肝臓の血管内に高濃度のベクターを注入したために引き起こされたと考えられています。米国ベイラー医科大学で行われた単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを用いた前立腺癌遺伝子治療において 1 例で肝機能障害が認められました。この症例ではアデノウイルスベクターを注入する針が前立腺から外れて周囲の静脈に刺入し、血液内にベクターが流れ込んだ疑いが示唆されました。このために私たちは血管内に誤って投与することなく確実に前立腺内への注入が出来るような装置を使用します。すでに私たちは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを使って前立腺に直接投与する遺伝子治療臨床研究を同様の装置を使用して実施しましたが、確実に前立腺内に投与できることを確認しており重篤な副作用は認めておりません。ただし、米

国バイラー医科大学での単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターによる前立腺癌遺伝子治療では、20%に一過性の発熱などの副作用が認められています。

### 3) アデノウイルスベクターの投与方法による副作用

アデノウイルスベクター液は、超音波診断装置を肛門から挿入して前立腺を観察しながら直腸粘膜を通してがん病巣に直接注射します。針の刺し方は、あなたが今までに行ったことのある前立腺針生検と同じ方法です。ベクター注入後は原則として一晩、膀胱にカテーテルを留置し、翌朝に抜去します。まれに出血、感染などの合併症が起きますが、通常は軽度のものが一時的に起こるだけで治療により軽快します。緊急処置を必要とするような激しい出血は非常にまれですが、万一この様なことが起こった場合には適切に処置を致します。また、感染を予防するために抗菌薬を使用します。抗菌薬の使用によって発疹などのアレルギー反応が生じることがありますが、点滴ならびに解毒薬によって改善します。麻酔は腰椎麻酔で行いますが、腰椎麻酔後に頭痛などの副作用が起きることがあります。治療後から翌朝までベッド上安静を保つことで予防できますし、もし頭痛が生じた場合でも点滴を行うことによって症状は改善されます。

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行われていないため、予想されない問題が起こるかも知れません。あなたの病状については、本臨床研究の担当医師以外に、さきの安全・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時には、私たちは全力でそれに対処しますが、治療を中止する場合もあることを、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させていただきます。

## 1 2. 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について

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づかれたときは、担当医師や看護師にすぐに申し出て下さい。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有害事象が発見された場合には、まずあなたにお知らせし、その上で適切な治療を行います。岡山大学病院は、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します。また本臨床研究による治療が原因で生じたいかなる有害事象に対しても、公費にて全額負担いたします。ただし、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または肉体的な不利益に対する補償をすることは出来ません。

## 1 3. 外国での状況について

### (1) インターロイキン 1 2 遺伝子治療

インターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを用いた前立腺がんに対する遺伝子治療は米国バイラー医科大学でも開始されました。平成 19 年 6 月までに 4 名の患者さんに遺伝子治療が実施され、今のところ副作用は認められていないと報告をうけていますが、長期的に見た安全性と治療効果に関する情報は無いのが現状です。以下

に岡山大学における本臨床研究との比較表を示します。

研究名	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学	
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)	
実施症例	未実施	4 名 (平成 19 年 6 月現在)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター		
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室		
遺伝子	インターロイキン 12 遺伝子 (同一の構造、方法にて製造)		
ベクター投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp	
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp	
対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B, C, D	B, C, D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準 3 人 (最大 6 名) 標準 21 人 (最大 36 名)	各レベル標準 3 人 (最大 5 名) 標準 21 人 (最大 35 名)
注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺	
治療としての位置付け	局所および全身治療		

また本臨床研究と同様にインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については、進行消化器癌を対象とした第 1 相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認されました。また有効性に関しては 21 例中 1 例に部分寛解が認められ、10 例に病状の安定化が認められています。

## (2) インターロイキン 12 遺伝子以外の遺伝子治療

単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターと抗ウイルス剤であるガンシクロビルを用いた前立腺がんの遺伝子治療臨床試験 (第一相臨床試験) は、米国ベイラー医科大学で 1996 年 8 月から開始され 1998 年 4 月に終了しました。放射線治療後再燃してきて臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃

前立腺癌を対象として 18 人の前立腺がん患者さんに治療が行われ、安全性に関するいくつかの情報が得られています。ここでは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた前立腺がんの遺伝子治療臨床試験に関する情報について述べたいと思います。

ベイラー医科大学から米国食品医薬品庁（FDA）に提出された報告ならびに公表されました論文によりますと、副作用については 17 人目までの患者さんにおいて発熱が 3 名、肝機能障害が 3 名、静脈注射部位の痛みを伴った腫れ（蜂窩織炎）が 1 名に認められています。これらの副作用は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で軽快しています。しかし 18 人目の患者さんにおいて、最高用量である  $1 \times 10^{11}$  IU (infection unit:PFU) のウイルスベクターが投与された後に軽度の発熱、高度の血小板減少と肝機能障害が出現したため、その時点で試験は中止されました。なお、本患者さんの血小板減少、肝機能障害は可逆的でありガンシクロビル投与開始 16 日目に正常値に回復しました。

上記の 18 名の患者さんを対象とした臨床研究の結果をもとに、米国食品医薬品庁（FDA）の許可の下、さらに 18 名の患者さんが  $1 \sim 3 \times 10^{10}$  IU のウイルスベクター量にて同様の治療を受けましたが、軽度の発熱ならびにかぜの症状を約 20% に認めたものの、重篤な副作用は認められませんでした。岡山大学ではベイラー医科大学より提供された単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターを用い、内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象とし、アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後抗ウイルス剤であるガンシクロビルを全身投与する臨床研究を実施しました。本研究は 2001 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、2006 年 7 月に最終登録例である 9 例目の被験者の治療を実施し、6 ヶ月以上観察し臨床試験を終了としています（8 名のべ 9 症例）。9 症例すべてにおいて有意な副作用を認めませんでした。治療効果の指標として腫瘍マーカーである PSA は 9 例中 6 例において低下し、安全性および治療効果が確認されました。

今回、私たちが計画している臨床研究では、ベイラー医科大学より提供されたインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを使用して、治療を行う予定です。前述したように米国食品医薬品庁（FDA）によって、野生型アデノウイルスの混入の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。

#### 1 4. 患者さんの権利と義務ならびに注意点について

人権にかかる重要なことがらは最初に説明しましたが、念のためにもう一度以下のことを申し上げますので確認して下さい。

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、あるいは一度同意した後に、その同意を撤回して治療中止の申し出をされても、その後の治療でああなたが何ら不利益を受けないことを保証いたします。臨床研究の参加に同意されても、医療訴訟を提起されることや人権が制約されることはありません。

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岡山大学病院、あるいはそれと密接な関連を持つ医療施設（担当医師からお知らせします）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）あるいはコンピューター断層撮影（CT）を行います。なお、不幸にして何らかの原因でお亡くなりになった場合には、治療の効果を確認するために病理解剖にご協力下さいますようお願いいたします。

また注意していただきたい点として、本臨床研究実施中に他院・他科の診察を受ける場合には本遺伝子治療臨床研究を受けている旨を必ず他院・他科の担当医に報告し、本遺伝子治療臨床研究の担当医にも必ず報告してください。また他院・他科で処方された薬や、あなた自身が薬局で購入した薬がある場合、可能な限り服用前に本遺伝子治療臨床研究担当医に相談するとともに、服用後は必ず本遺伝子治療臨床研究担当医に報告してください。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様をご希望されるかたは、その旨担当医にご相談ください。今回使用するアデノウイルスベクターがあなたの精液に一時的に混ざる可能性は極めて低いものと思われませんが、完全に否定はできません。そのため臨床研究実施期間中はコンドームを使った避妊を行う必要があります。

#### 15. 治療に関わる諸経費について

本臨床研究にかかわる入院中の一切の治療・検査経費に関しては岡山大学病院の公費ならびに研究費でまかなわれますので、あなたへの金銭的負担は発生しません。治療後の検査の場合、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となりますが、本臨床研究に特有の検査についてはすべて岡山大学病院の公費ならびに研究費で負担いたします。したがって、この臨床研究に参加することによって、今まで以上に余分なお金を負担していただくことはありません。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には、これまでどおり公的医療保険が適応され、その医療費にかかる一部負担金等は負担していただきます。

#### 16. 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて

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に関する指針」の規定に従って、岡山大学病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会、厚生科学審議会科学技術部会ならびにがん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて、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臨床研究はこのような手続きを経て承認された臨床研究です。

## 17. 同意の撤回について

臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することができます。同意を撤回された場合、その後の治療につ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。同意の撤回に際しては、撤回することを担当医師に口頭で伝え、その後、確認のために所定の同意撤回書を提出していただきます。

## 18. 同意撤回後の資料取り扱いについて

同意を撤回される以前のあなたの臨床経過や検査結果ならびに保管されている臨床検体については貴重な資料となりますので、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。

## 19. 個人情報の保護について

(1) あなたの診療記録および同意書など、この遺伝子治療臨床研究に伴う診療記録や臨床データは、以下の法律等の規定に基づき、岡山大学病院医事課で保管し秘密を厳守します。得られた臨床データはこの臨床研究に利用する他、この研究の結果を医学雑誌や学会、厚生労働省およびその審議会に報告することがありますが、あなたの個人情報は保護されます。なお、利用目的に変更が生じた場合には、改めてご連絡させていただきます。

- ① 個人情報の保護に関する法律（平成15年5月30日法律第57号）
- ② 遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年3月27日文科科学省・厚生労働省告示第1号）
- ③ 国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程（平成17年3月24日施行）

(2) あなたは、この臨床研究により得られた、あなた自身が識別できる個人情報の開示を求めることができます。その際には、上記の指針・規定および「国立大学法人岡山大学の情報公開に関する規定」に照らし、開示の妥当性を判断します。患者さんが個人情報の開示を請求する場合は、無料といたします。ただし、実施にかかる手数料については、当院が定めた料金規程により納めていただきます。

(3) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合」には、訂正・追加または削除を求めることができます。訂正・追加または削除できない場合には、必要に応じてその旨を説明します。

(4) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合、本臨床研究の目的達成に必要な範囲を超えて利用されていると判断した場合あるいは不正の手段により個人情報が取得されたものと判断した場合」には利用の停止または消去を求めることができます。その際には、総括責任医師が内容を調査し、違反が判明した場合には必要な措置を講じるとともに、必要に応じてその旨を説明します。なお、利用の停止または消去ができ

ない場合にも、必要に応じてその旨を説明します。

(5) 個人情報に関してあなたのご理解を深めていただくため、個人情報の保護に関する法律及び当病院の個人情報に関する院内規定を当病院のホームページ上に掲載しております (<http://www.uro.jp/okayama/index.html>)。また、個人情報の開示等に関する詳細な内容の照会や疑問等については、下記担当係にお問い合わせ願います。

○担当係： 岡山大学病院医事課患者支援係  
(電話 086-235-7205)

## 20. 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について

この臨床研究への参加者としてのあなたの権利や、研究に関連した障害などについて、何らかの問題や質問が生じたときには、岡山大学病院泌尿器科 (TEL 086-235-7287 または 086-235-7285, FAX 086-231-3986), または岡山大学病院総務課 (TEL 086-235-7507) にご連絡下さい。

## 21. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

### (1) 研究の名称

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究 (前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究)

### (2) 実施施設

岡山大学病院

連絡先：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学

TEL 086-235-7286

FAX 086-231-3986

### (3) 総括責任医師

公文裕巳 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学教授)

### (4) 試験担当医師

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分野准教授)

雑賀隆史 (岡山大学病院・泌尿器科講師)

賀来春紀 (岡山大学病院、遺伝子細胞治療センター助教)

江原 伸 (岡山大学病院・泌尿器科助教)

小林知子 (岡山大学病院・泌尿器科医員)

谷本竜太 (岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学大学院生)

## 前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。遺伝子治療臨床研究に参加することに同意します。また、上記臨床研究を行う上で必要な処置、及び上記臨床研究において予測されない状況が発生した場合、それに対応するための緊急処置を受けることも併せて同意します。

- はじめに
- 臨床研究について
- あなたの前立腺がんについて
- 遺伝子治療臨床研究の概要について
- アデノウイルスベクターについて
- 臨床研究の目的について
- 臨床研究の進め方について
- 適応判定について
- 遺伝子治療の方法とスケジュールについて
- 期待される治療効果について
- 安全性と副作用について
- 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について
- 外国での状況について
- 患者さんの権利と義務ならびに注意点について
- 治療に関わる諸経費について
- 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて
- プライバシーの保護について
- 同意の撤回について
- 同意撤回後の資料取り扱いについて
- 個人情報の保護について
- 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

以上の内容を証明するため、ここに署名、捺印いたします。

なお、私は前立腺生検の実施に、  同意いたします。  同意いたしません。

同意年月日平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

説明をした医師及び説明日

平成 年 月 日

\_\_\_\_\_ (署名) \_\_\_\_\_ (印)

\_\_\_\_\_ (署名) \_\_\_\_\_ (印)

前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、研究協力を依頼され、同意書に署名しましたが、その同意を撤回する事を担当医師 \_\_\_\_\_ に口頭で伝え、確認のため、同意撤回書を提出します。

平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

添付資料 12-3.

前立腺がん遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

②-2. 内分泌抵抗性転移性再燃前立腺癌（前立腺全摘症例）

# 目 次

1.	はじめに	2
2.	臨床研究について	2
3.	あなたの前立腺がんについて	3
4.	遺伝子治療臨床研究の概要について	3
5.	アデノウイルスベクターについて	3
6.	臨床研究の目的について	5
7.	臨床研究の進め方について	5
8.	適応判定について	6
9.	遺伝子治療の方法とスケジュールについて	8
10.	期待される治療効果について	10
11.	安全性と副作用について	10
12.	遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について	12
13.	外国での状況について	12
14.	患者さんの権利と義務ならびに注意点について	14
15.	治療に関わる諸経費について	15
16.	遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて	15
17.	同意の撤回について	15
18.	同意撤回後の資料取り扱いについて	15
19.	個人情報の保護について	15
20.	緊急連絡先および質問の問い合わせ先について	16
21.	遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制	16

最終頁 「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書」

「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書」

# 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

## 説 明

### 1. はじめに

私たちは、がん細胞に遺伝子を入れて、その働きでがん細胞の増殖を抑えたり、がん細胞を死滅させることで治療効果を得る遺伝子治療臨床研究（以下「臨床研究」と略します）を考えています。これから、この臨床研究で行われる前立腺がんの遺伝子治療の仕組み、期待される効果、安全性、予想される副作用などについてご説明いたしますので、この臨床研究に被験者（患者）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。

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いたしますし、わからない点があれば何度でも説明いたします。

このような臨床研究に参加される方の人権を守るため、あなたが臨床研究に参加することは、あくまでもあなたの自主性に基づいた自由意思によるものであることを前提として以下のことを約束します。

- a) 臨床研究に参加することを私たちがお勧めして、あなたが拒否された場合も、今後の治療には不利益を受けることは一切ないこと。
- b) 臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することが出来ること。

### 2. 臨床研究について

臨床研究（あるいは臨床試験）とは、新しく考え出された治療方法や薬物を患者さんのご協力を受けて投与することにより、実施の診療・治療の場で安全性や治療効果を検討することを言います。このような新しい治療法を一般的に実施し、広く患者さんが恩恵を受けることができるようにするためには、臨床研究を行い、安全性に問題がないか、そして治療効果があるかについて科学的な評価を受けなければなりません。

一般的に臨床研究は治療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段階（第一相試験）、第一相試験で定められた方法で治療を行い効果を調べる段階（第二相試験）、現在一般的に使われている治療や薬剤と比較する段階（第三相試験）に分けられます。

前立腺癌の遺伝子治療に限らず、遺伝子治療に関する臨床研究は、まだ研究段階の治療です。患者さんに行って、本当に効果があるかどうか、安全に行えるかどうか、わからないところもたくさんあります。今回、患者さんに紹介する臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的（主要エンドポイントと呼びます）とし、同時に治療の効果も調べることを目的としており（副次エンドポイントと呼びます）第一／第二相試験に相当すると考えられます。

### 3. あなたの前立腺がんについて

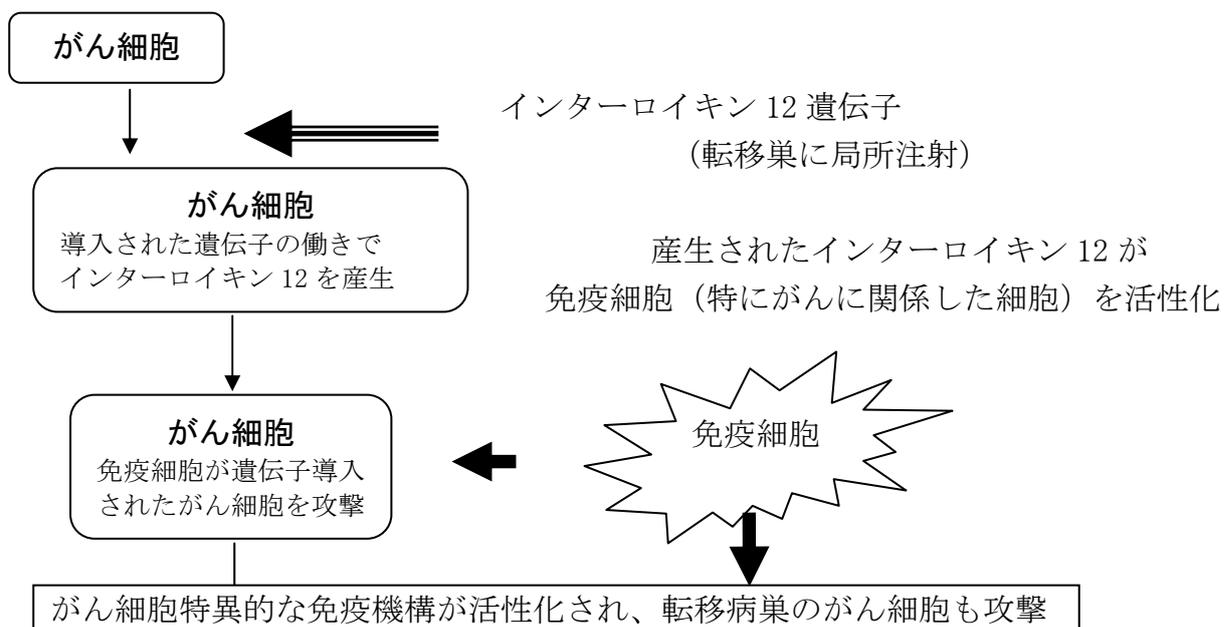
あなたの前立腺がんの治療には前立腺全摘出術の後の再発に対して内分泌療法を行っていますが、腫瘍の増殖の程度を適切に反映する指標（腫瘍マーカー）である前立腺特異抗原（PSA）が徐々に上昇しています。これは治療にもかかわらず前立腺がんが進行しつつある兆候です。このまま、あなたの前立腺がんが進行すると、半数以上の確率で新たな転移巣の出現、すでに転移を認めている方は転移に伴う痛みの増強、局所再発部の腫大に伴う排尿困難ならびに血尿の出現が予測されます。

あなたのような状態の患者さんに対する遺伝子治療以外の治療法としては、局所再発部や転移巣に放射線を照射することや抗癌剤による治療が行われています。しかし、放射線治療に関しては痛みの緩和は期待できるものの、放射線を照射していない病巣の治療にはなっていません。抗癌剤治療では、ドセタキセルが無作為化比較試験によって2-3ヶ月ではあるものの明らかな生存期間の延長が認められる薬剤として位置付けられています。しかし日本において保険適応となっていない問題があります。現在日本で保険適応となっている抗癌剤では明らかな予後の改善を認める薬剤がなく、また70%以上の確率で嘔吐、脱毛といった副作用が出現する問題があり、決定的な治療法がないのが現状です。

#### 4. 遺伝子治療臨床研究の概要について

私たちの計画している遺伝子治療は、白血球から産生されるタンパク質の1つであるインターロイキン 12 の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がん細胞に導入します。インターロイキン 12 の遺伝子を腫瘍内に投与することによって、腫瘍細胞がインターロイキン 12 のタンパクを産生し、このタンパクによって活性化された免疫細胞が遺伝子を投与した腫瘍細胞を攻撃することが期待されます。さらに、がん細胞特異的な免疫機構が活性化され、遺伝子を直接投与していない病変や転移病巣も攻撃することが期待されます。また、腫瘍組織内にベクターを直接投与する方法は血管内に投与する方法に比較して安全性が高いことが予測されます。

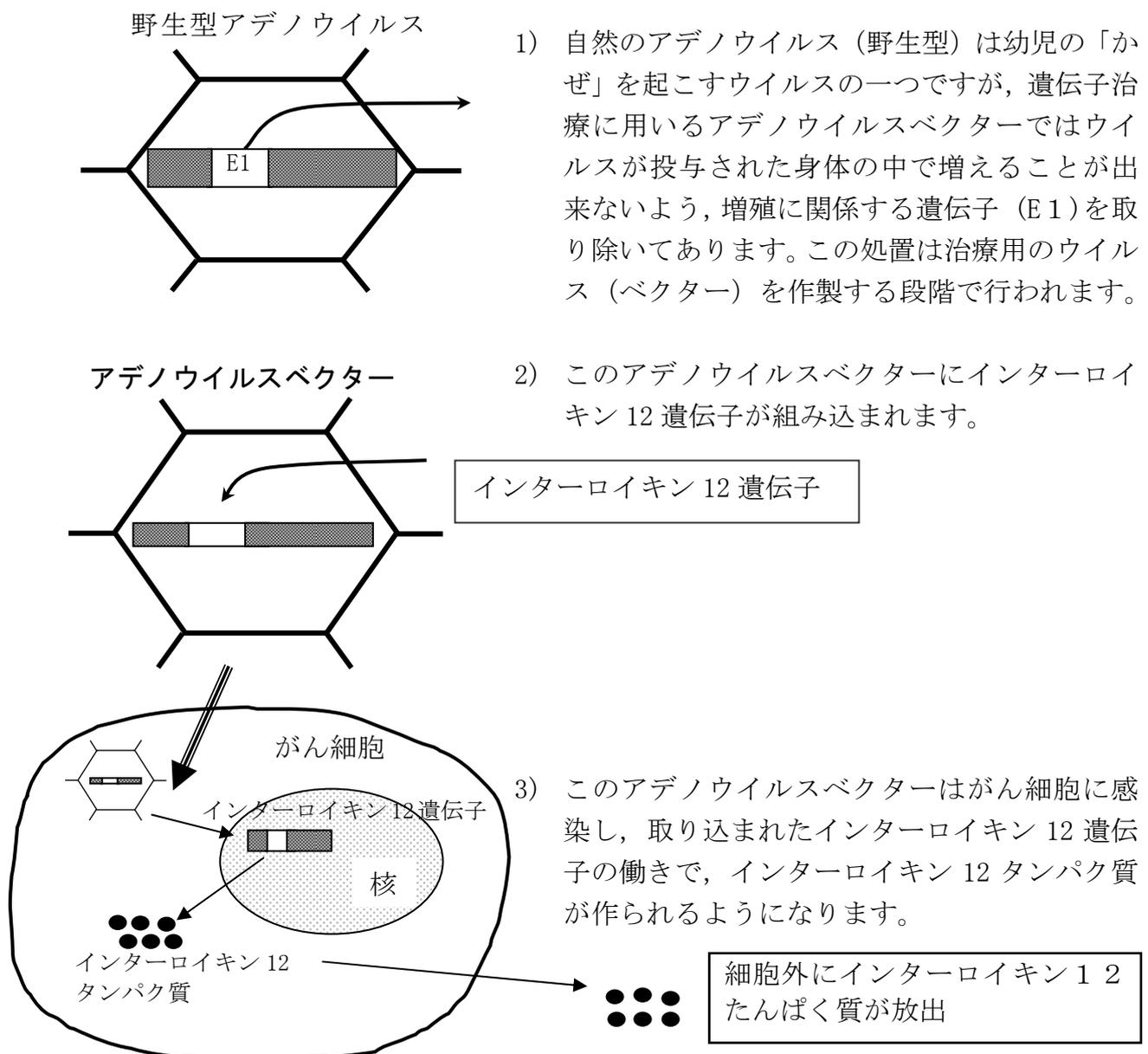
図1 インターロイキン 12 遺伝子導入による抗腫瘍効果の説明



## 5. 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、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のために、アデノウイルスをベクターとして使います。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インターロイキン 12 遺伝子を組み込んで、これをがん細胞に注射します。アデノウイルスベクターはがん細胞に感染し、インターロイキン 12 遺伝子ががん細胞の中に持ち込まれますと、タンパク質であるインターロイキン 12 が作られるようになります。このインターロイキン 12 のはたらきでがん免疫機構が体内で活性化され、前立腺がん細胞を攻撃するようになります。このがん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。

図2 アデノウイルスベクター・システムの説明



## 6. 臨床研究の目的について

これまでの研究によって、インターロイキン 12 遺伝子を導入する遺伝子治療は、導入されたがん細胞から産生されたインターロイキン 12 タンパク質によって体内の免疫細胞が活性化され、がん細胞が攻撃されることが明らかになりました。マウスを使った動物実験では、前立腺に移植されたマウスの前立腺がんに対して治療効果があることが明らかになり、さらに前立腺だけでなく肺にも同時にがん細胞を移植されたマウス動物実験転移モデルにおいて、前立腺にインターロイキン 12 遺伝子を導入することによって前立腺だけでなく、肺の病変部にも治療効果があることが明らかになりました。つまり転移がある場合でも前立腺にインターロイキン 12 遺伝子を導入した際に、その効果が全身に波及し、転移にも効くことが証明されました。また安全性を評価するためにアデノウイルスベクターをマウス前立腺に投与し、その広がりを解析した動物実験では、解剖学的に隣接する臓器にのみアデノウイルスベクターが認められるものの、全身的な広がりを示唆する結果は認められませんでした。このような結果から実際の患者さんの治療にも安全かつ効果があるという合理的な見通しが成り立つものと考えています。そこでいよいよ実際の患者さんについて、その効果と安全性を確かめる段階となりました。

今回の臨床研究の目的は、このインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合、副作用をおこすことなく投与できるかどうか、また患者さんのがんが縮小したり増殖が止まったりするかどうかを明らかにすることにあります。

私たちはこの臨床研究に参加していただく患者さんの前立腺がんが小さくなったり、増殖が止まったりすることを期待しています。しかし、この臨床研究はまだ始まったばかりであり、はっきりとした臨床効果を期待するのはこれからのことなのです。今回の臨床試験の主要な目的はインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを患者さんに投与した場合の安全性を確認することにあります。そのため、投与するアデノウイルスベクター用量は低い用量から開始します。そのため用量が低すぎることも予測され、がんが縮小したり増殖が止まったりする臨床効果がみられないことも想定されますし、臨床効果が認められないにもかかわらず副作用が出現する可能性もあることをご理解ください。

## 7. 臨床研究の進め方について

この臨床研究では、インターロイキン 12 遺伝子を持つ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と治療効果を確認するために、投与量を段階的に増やしながら進めます。

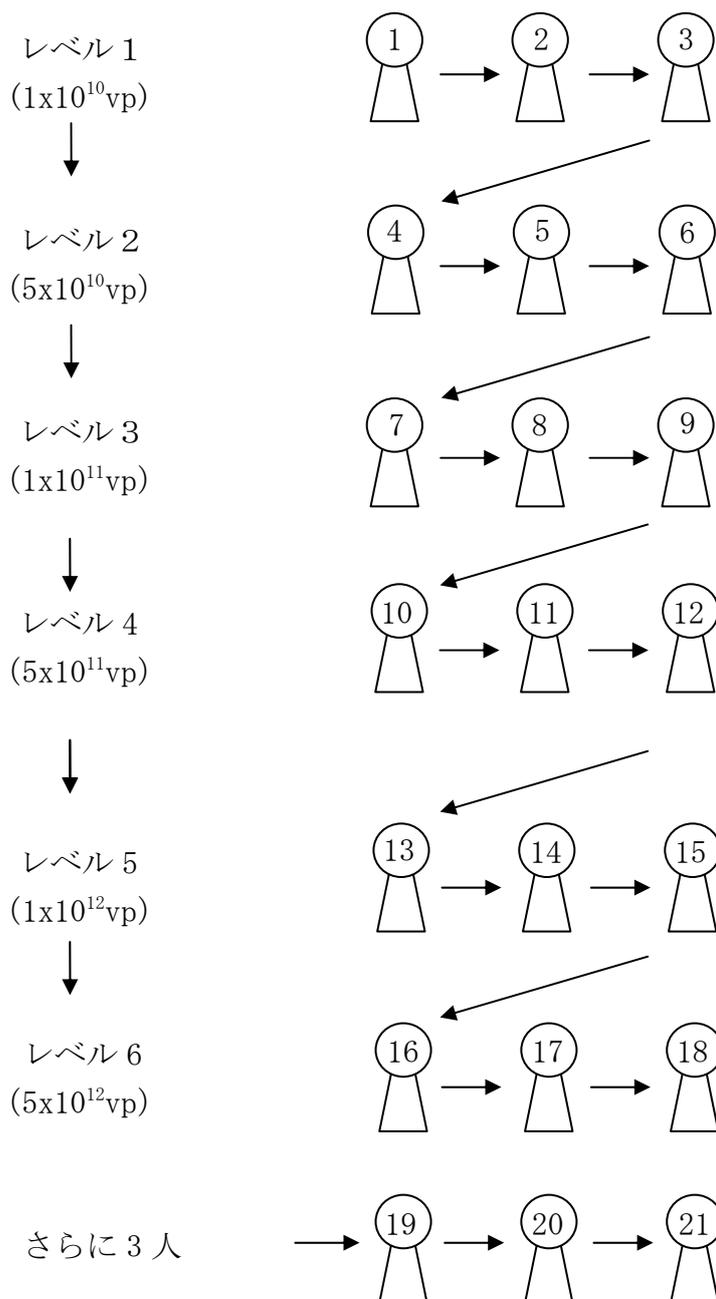
まず  $1 \times 10^{10}$  vp (viral particle) のアデノウイルスベクターを 3 人の患者さんに投与して、副作用とがんに対する効果の有無を調べます (レベル 1)。この治療で重い副作用が認められなければ、次の 3 人の患者さんには 5 倍増量したアデノウイルスベクター ( $5 \times 10^{10}$  vp) が投与されます (レベル 2)。重い副作用が認められない場合には投与量をさらに 2 倍 ( $1 \times 10^{11}$  vp) 増やすように段階的に進め (レベル 3)、最終的には予定しています最大投与量 ( $5 \times 10^{12}$  vp) で 3 人の患者さんの治療を行います (レベル 6)。重い副作用が認められなければ、最大投与量での安全性と効果を確認するためにさらに 3 人の患者さんの治療を行います。したがって計画通りに進めば合計 21 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。その場合、安全に投与できる最大投与量を決定するために、そのレベルでの患者さんの数を増やして検討することとなります。

あなたに予定されている投与量はレベル（ ）であり（ ）vpとなります。

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



### 8. 適応判定について

この臨床研究の対象となるのは、前立腺全摘出術を行えないことから内分泌療法が行われているにもかかわらず、腫瘍マーカーの前立腺特異抗原（PSA）の値が上昇しつつ

ある方（転移のある場合と、無い場合），ならびに前立腺全摘出術後に，局所再発もしくは転移を認め内分泌療法が行われているにもかかわらず PSA の値が上昇した方です。前述したように，インターロイキン 12 は体内の免疫機構を活性化させるため，インターロイキン 12 遺伝子を導入した前立腺局所のみならず転移巣にも効果があると考えられます。

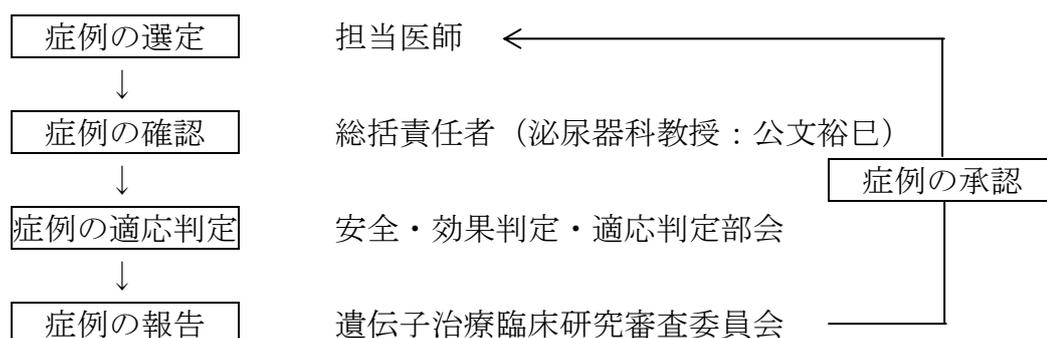
担当医師によりこの臨床研究の適応症例に該当すると判断された場合，あなたの病歴，全身状態を含めた検査結果は岡山大学病院の本臨床研究審査委員会の中にある安全・効果評価・適応判定部会に提出されます（図 4）。この部会にてあなたが遺伝子治療を受けるに適切であると判断され，そしてあなたが同意書に自署又は捺印をして遺伝子治療を受けることに同意されますと，治療が開始されることとなります。

また，インターロイキン 12 遺伝子治療が開始された後も今まで投与されていた LH-RH アゴニストが引き続き投与されることをご理解ください。この理由として，LH-RH アゴニストを中止することで前立腺がん細胞の増殖が刺激され，がんの病勢が悪化することが知られており，患者さんへの不利益を最小限に抑えることを目的としています。

研究に参加いただける患者さんの医学的な条件は以下の通りです。

- 1) 前立腺がんを有していること。
- 2) 年齢は 20 歳以上で上限はないが，医学的に本臨床研究を行うために十分な身体的機能を有すると判断されること。
- 3) 内分泌療法が行われているにもかかわらず，腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA）が有意に上昇（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，最終的に PSA 値が 4.0ng/ml 以上）していること。
- 4) 現在無症状であるか，あるいは症状があっても歩行可能か，ベットにいるのが一日の半分以下であること。
- 5) 骨髄機能，肝機能，腎機能，心機能，肺機能に重い障害がないこと。
- 6) コントロールされていない活動性感染症など，重篤な併発疾患がないこと。
- 7) 本臨床研究参加 6 ヶ月以内に未承認薬の臨床試験（治験も含む）に参加していないこと。
- 8) 前立腺癌以外の悪性腫瘍歴がないこと。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ありません。

図 4 適応判定の過程の流れ



## 9. 遺伝子治療の方法とスケジュールについて

### (1) 遺伝子の導入

アデノウイルスベクターの注入は、局所再発部位に注入する場合、岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて腰椎麻酔を施行し、肛門から超音波を発信する器械を挿入して、前立腺を観察しながら針を刺してがん病巣に直接アデノウイルスベクターを1ないし2ヵ所（最大2ヵ所）に注射します。骨やリンパ節などの転移部位に超音波を使用してベクターを注入する場合は岡山大学病院北病棟3階手術場無菌室内にて局所麻酔を施行し、超音波にて病変部を確認しながらベクターを注入します。CTでベクターを注入する場合、岡山大学病院中央放射線部CT室にて局所麻酔を施行し、CTにて病巣を確認しながらベクターを注入します。局所再発部にベクターを注入した場合、尿道カテーテルを注入直後に留置し、翌日抜去しますが、転移部にベクターを注入する場合は尿道カテーテルは留置しません。また感染症予防のため、治療後3日間の抗生剤投与を行います。

### (2) 遺伝子導入後の管理

遺伝子を注入したあと、原則として個室に入院していただきます。これは、遺伝子の乗り物であるウイルスベクターが尿などに混ざって体外に排出され、それが他の人に感染することを防ぐため、これを回収することを主な目的としています。血液や尿の中にベクターが混ざらなくなったことを検査によって確認した後（遺伝子を注射したあとおよそ数日間と考えています）は、自由にお部屋の出入りができるようになります。

### (3) アデノウイルスベクターの投与回数

アデノウイルスベクターの注射後4週間、副作用の有無を調査し、重篤な副作用が認められなければ2回目のアデノウイルスベクターを注射し、基本的には3回のアデノウイルスベクターの注射を行います。

### (4) アデノウイルスベクター注入後のスケジュール

アデノウイルスベクター注入後は、副作用およびベクターの体内での濃度を調べる必要があり、2日毎に採血・採尿を行います（注：投与3日後までは連日採血を行います）。ベクター注入後、尿中ならびに血液中にアデノウイルスベクターが検出されなくなるまで個室隔離とし、専用の着衣の着用が義務づけられます。また排泄物、着衣や病室内も消毒等が実施されます。3回のアデノウイルスベクターの注射終了後に組織検査、コンピューター断層撮影（CT）、核磁気共鳴画像診断（MRI）などによって治療効果判定を行います。

入院の期間については治療中の健康状態、居住地により適宜相談し判断させていただきますが、遺伝子を注入して一週間はかならず入院していただくこととなります。

以下に安全性・有効性に関する検査・評価項目のスケジュールを示します。

採血させていただく血液の量についてもスケジュール表に記載していますが概ね一回あたり20-30mlです。

①安全性の評価に関する検査項目ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1日後	7日後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと5年 目まで)
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与4週後をさす	
理学所見 (体重、PSを含む)	○	毎日観察する			○	○	○	○	○
血液一般 (血小板数、白血球分画を 含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
生化学検査一般 (腎機能・肝機能を含む)	○	2日毎に観察 ○		○	○	○	○	○	○
クレアチニン・クリアランス	○						○		
出血・凝固時間	○						○		
PT, PTT, fibrinogen	○						○		
尿沈渣	○	○		○	○	○	○	○	○
尿培養、感受性試験	○	○					○		
アデノウイルス中和抗体測定	○	○		○	○	○	○	○	○
アデノウイルススペクター の同定 (血液、尿中PCR法)	○	2日毎に観察 ○			○	○	○		
心電図	○				○		○	○	○
胸部レントゲン	○	○					○	○	○
排尿状態 (Uroflowmetry, AUAscore)	○*	○*			○*	○*	○*	○*	○
採血量 (ml)	14	10	10.2	8.2	10.2	10.2	14	8.2	8.2

\*前立腺内注入例または前立腺全摘出術後の局所再発例に実施

②治療効果判定に関する検査ならびにタイムスケジュール

項目	投与前	1, 2, 3, 5 日	7日 後	2週後	4週後 (2回目投与前)	8週後 (3回目投与前)	12週後 (3回投与4週後)	治療終了後 3ヶ月毎	治療終了後 1年後 (以後3ヶ月ごと と5年目まで)	
	各投与毎に実施				4週ごとの3回投与を1サイクルとする 継続投与症例はこのサイクルを繰り返す			治療終了とは 最終投与4週後をさす		
PSA	○			○	○	○	○	○	○	
血液中リンパ球サブセット	○	○	○	○	○	○	○	○	○	
NK細胞活性	○		○	○	○	○	○	○	○	
血清サイトカイン	○	○	○	○		○	○	○	○	
血清CTL誘導ペプチドに対 する特異的IgG抗体	○				○	○	○	○	○	
HLA-Aタイピング	○									
経直腸的超音波検査 (注)	○								○	○
前立腺生検または 組織生検	○	○*								○ (1年毎) **
骨シンチ	○									
骨転移部のMRI (骨転移症例)	○									
前立腺部MRI (注)	○									
腹部、骨盤部CT	○									
採血量(ml)	19.5	9.5	14.5	14.5	19.5	19.5	19.5	19.5	19.5	

注) : 前立腺全摘除例については吻合部の検索を行う

\* : 主治医が医学的に可能と判断し、同意が得られた場合48-72時間後に実施 (遺伝子発現解析)

\*\* : 同意が得られた患者に対して治療終了1年後より1年毎に施行予定 (組織学的治療効果判定)

<組織生検について>

- a) 主治医が医学的に可能と判断し、同意がえられたならば、治療部位に実際に遺伝子が入っているかどうかを調べるために第一回目の治療を行った **48-72** 時間後に実施します。しかし短期間に **2** 回針をさすこととなりますので、体に負担がかかることもありますので、体の状態を十分考慮して実施するかどうか決めます。
- b) もし同意がえられたならば、治療効果を判定するためにアデノウイルススペクターを注入した部分の生検を治療をはじめて12週後、(後で説明するように12週後も治療を継続した場合は治療中12週ごと)、治療が終了した1年後より1年

毎に 5 年間行いがん細胞の有無、変化などを調べます。方法は今回治療を受けた方法と同じ方法を用いて組織を採取します。

#### (5) 退院後のスケジュール

本臨床研究終了後、岡山大学病院では少なくとも投与後 60 ヶ月の追跡調査を行う予定であることをご承知置き下さい。これは遺伝子治療の長期にわたる安全性がまだ確立していないことから、試験終了後に問題が生じることがないかを追跡するために行います。検査の内容、時期については今まで受けてこられた血液検査、画像検査、組織検査を先ほどのスケジュールに沿って予定します。

#### (6) 治療の継続について

治療効果によって病状の悪化が認められず、病状が改善もしくは不変と判定された場合、治療を引き続き続行することが可能です。この効果判定は腫瘍マーカーである PSA または CT などによる画像検査での判定となります。PSA が治療前に比べて上昇していないか、もしくは画像検査によって病変部が増大しておらず、新病変も認めない場合が該当します。追加投与について患者さんの了解が得られた場合、それまでの治療に関するデータを含めて追加投与の申請書を適応判定部会に提出します。この部会において治療を続行することが適切であると判断され、そして患者さんが同意書に自署又は捺印をして追加の遺伝子治療を受けることに同意されますと、追加治療が開始されることとなります。また投与を継続する場合は、アデノウイルスベクター3 回目の投与 28 日後にスケジュールに沿って安全性・効果に関する諸検査を実施しその後速やかに総合評価を安全・効果評価・適応判定部会にて行い、さらなる追加投与継続の適格性を科学的、倫理的に評価します。追加投与回数の上限はありませんが、安全性の問題や患者さんから中止の申し出があった場合には投与を中止いたします。

また遺伝子治療継続中に、同じ患者さんへ投与されるアデノウイルスベクター量は増量できません。さらに遺伝子治療後、継続治療を行わず外来で経過観察されている中で、再び本臨床研究を受ける希望がある場合は、本臨床研究における 2 重登録とみなされるため、お受けできないことをご了承ください。

### 10. 期待される治療効果について

具体的な効果としては、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原 (PSA) が下降したり、上昇が止まることです。また、排尿困難や血尿を自覚されている場合には、がんにより腫大した前立腺が縮小することにより、これら症状が改善されることが期待されます。

### 11. 安全性と副作用について

#### 1) インターロイキン 12 の安全性

インターロイキン 12 を投与する方法としては遺伝子を投与する方法と、遺伝子から作られたタンパク質そのものを投与する方法があります。またそれぞれを点滴や静脈注射で全身に投与する方法、皮下注射、癌病巣に直接注射する方法があります。これらの投与方法により副作用の出現の仕方が異なるためその点について詳しく述べます。

インターロイキン 12 は以前より癌に効果のある薬剤として注目されてきました。1995 年インターロイキン 12 遺伝子より作られるインターロイキン 12 タンパク質の効果を調べる研究が腎臓の癌を対象として米国でおこなわれました。この試験はインターロイキン 12 タンパク質を点滴にて 5 日間連続で全身に投与する方法にておこなわれましたが、2 名の患者さんが大腸における潰瘍からの出血、多臓器不全、壊死性肺炎といった重篤な副作用で死亡するという事故が起こりました。これは実際の投与を行う 2 週間前に一度テスト投与を行い様子を見て安全性を確認してから投与する方法をおこなわなかったためと判明しました。

その後、点滴で全身に投与する方法は中止され、悪性リンパ腫を対象に皮下注射をおこなうことがおこなわれ副作用は低く抑えられるようになりました。副作用としては発熱、倦怠感、頭痛、悪寒、筋肉痛、一時的な血液検査の異常（好中球、リンパ球減少、血清トランスアミナーゼ、ビリルビンの上昇）が認められました。評価可能症例 9 例中 5 例において完全もしくは部分寛解が認められており、一定の治療効果が得られました。

さらに安全かつ効果的な方法としてインターロイキン 12 遺伝子を癌そのものに注入することで、腫瘍局所にインターロイキン 12 タンパク質が発現し、インターロイキン 12 タンパク質が全身的に広がらない方法が考案され研究されました。これが今回予定している遺伝子治療です。

## 2) アデノウイルスベクターの安全性

インターロイキン 12 遺伝子をがん細胞の中に入れるために、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のためにアデノウイルスをベクターとして使います。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に、ウイルスの一部を欠損させる操作をしています。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能力のあるアデノウイルスが混入することは避けられません。

我々が使用するインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターは、米国のベイラー医科大学によって製造および検査され、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の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。先にも述べたようにアデノウイルスは、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。

しかし 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。この原因は、肝臓の血管内に高濃度のベクターを注入したために引き起こされたと考えられています。米国ベイラー医科大学で行われた単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを用いた前立腺癌遺伝子治療において 1 例で肝機能障害が認められました。この症例ではアデノウイルスベクターを注入する針が前立腺から外れて周囲の静脈に刺入し、血液内にベクターが流れ込んだ疑いが示唆されました。このために私たちは血管内に誤って投与することなく確実に前立腺内への注入が出来るような装置を使用します。すでに私たちは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを使って前立腺

に直接投与する遺伝子治療臨床研究を同様の装置を使用して実施しましたが、確実に前立腺内に投与できることを確認しており重篤な副作用は認めておりません。ただし、米国ベイラー医科大学での単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターによる前立腺癌遺伝子治療では、20%に一過性の発熱などの副作用が認められています。

### 3) アデノウイルスベクターの投与方法による副作用

アデノウイルスベクター液は、超音波診断装置を肛門から挿入して前立腺を観察しながら直腸粘膜を通してがん病巣に直接注射します。または CT 画像を用いて、転移のある場所を観察しながらがん病巣に直接注射します。前立腺を摘出した局所での再発部に対する針の刺し方は、あなたが今までに行ったことのある前立腺針生検と同じ方法です。局所再発部にベクター注入後は原則として一晩、膀胱にカテーテルを留置し、翌朝に抜去します。まれに出血、感染などの合併症が起こりますが、通常は軽度のものが一時的に起こるだけで治療により軽快します。緊急処置を必要とするような激しい出血は非常にまれですが、万一この様なことが起こった場合には適切に処置を致します。また、感染を予防するために抗菌薬を使用します。抗菌薬の使用によって発疹などのアレルギー反応が生じることがありますが、点滴ならびに解毒薬によって改善します。麻酔は腰椎麻酔で行いますが、腰椎麻酔後に頭痛などの副作用が起きることがあります。治療後から翌朝までベッド上安静を保つことで予防できますし、もし頭痛が生じた場合でも点滴を行うことによって症状は改善されます。

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な行われていないため、予想されない問題が起こるかも知れません。あなたの病状については、本臨床研究の担当医師以外に、さきの安全・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時には、私たちは全力でそれに対処しますが、治療を中止する場合もあることを、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させていただきます。

#### 1 2. 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について

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づかれたときは、担当医師や看護師にすぐに申し出て下さい。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有害事象が発見された場合には、まずあなたにお知らせし、その上で適切な治療を行います。岡山大学病院は、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します。また本臨床研究による治療が原因で生じたいかなる有害事象に対しても、公費にて全額負担いたします。ただし、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または肉体的な不利益に対する補償をすることは出来ません。

#### 1 3. 外国での状況について

(1) インターロイキン 1 2 遺伝子治療  
インターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを用いた前立腺がんに対す

る遺伝子治療は米国ベイラー医科大学でも開始されました。平成 19 年 6 月までに 4 名の患者さんに遺伝子治療が実施され、今のところ副作用は認められていないと報告をうけていますが、長期的に見た安全性と治療効果に関する情報はないのが現状です。以下に岡山大学における本臨床研究との比較表を示します。

研究名	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	
実施施設	岡山大学	米国ベイラー医科大学	
承認日/実施日	平成 15 年 11 月 27 日 (学内承認)	平成 13 年 8 月 (FDA の承認) / 平成 16 年 5 月 18 日 (実施)	
実施症例	未実施	4 名(平成 19 年 6 月現在)	
ベクターの種類	アデノウイルスベクター		
ベクターの生産	ベイラー医科大学遺伝子ベクター室 (同一の構造、方法にて製造)		
遺伝子	インターロイキン 12 遺伝子		
ベクター投与量	レベル 1	1x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 2	5x10 <sup>10</sup> vp	
	レベル 3	1x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 4	5x10 <sup>11</sup> vp	
	レベル 5	1x10 <sup>12</sup> vp	
	レベル 6	5x10 <sup>12</sup> vp	
対象となる患者	年齢	上限なし	
	前治療	内分泌療法を必ず含む	内分泌療法、放射線療法、凍結療法
	病期	B, C, D	B, C, D
	転移症例	含まれる	
	術後の再発	含まれる	含まれない
	症例数	各レベル標準 3 名 (最大 6 名) 標準 21 名 (最大 36 名)	各レベル標準 3 名 (最大 5 名) 標準 21 名 (最大 35 名)
注入部位	前立腺、術後再発部位、 転移部位	前立腺	
治療としての位置付け	局所および全身治療		

また本臨床研究と同様にインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターを腫瘍局所に直接投与する手法については、進行消化器癌を対象とした第 1 相試験がスペインにおいて実施され、安全性が確認されました。また有効性に関しては 21 例中 1 例に部分寛解が認められ、10 例に病状の安定化が認められています。

## (2) インターロイキン 1 2 遺伝子以外の遺伝子治療

単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターと抗ウイルス剤であるガンシクロビルを用いた前立腺がんの遺伝子治療臨床

試験（第一相臨床試験）は、米国ベイラー医科大学で1996年8月から開始され1998年4月に終了しました。放射線治療後再燃してきて臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象として18人の前立腺がん患者さんに治療が行われ、安全性に関するいくつかの情報が得られています。ここでは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターとガンシクロビルを用いた前立腺がんの遺伝子治療臨床試験に関する情報について述べたいと思います。

ベイラー医科大学から米国食品医薬品庁（FDA）に提出された報告ならびに公表されました論文によりますと、副作用については17人目までの患者さんにおいて発熱が3名、肝機能障害が3名、静脈注射部位の痛みを伴った腫れ（蜂窩織炎）が1名に認められています。これらの副作用は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で軽快しています。しかし18人目の患者さんにおいて、最高用量である $1 \times 10^{11}$  IU (infection unit) のウイルスベクターが投与された後に軽度の発熱、高度の血小板減少と肝機能障害が出現したため、その時点で試験は中止されました。なお、本患者さんの血小板減少、肝機能障害は可逆的でありガンシクロビル投与開始16日目に正常値に回復しました。

上記の18名の患者さんを対象とした臨床研究の結果をもとに、米国食品医薬品庁（FDA）の許可の下、さらに18名の患者さんが $1 \sim 3 \times 10^{10}$  IU のウイルスベクター量にて同様の治療を受けましたが、軽度の発熱ならびにかぜの症状を約20%に認めたものの、重篤な副作用は認められませんでした。岡山大学ではベイラー医科大学より提供された単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターを用い、内分泌療法中に再燃してきた臨床的に遠隔転移を認めない局所再燃前立腺癌を対象とし、アデノウイルスベクターを単独で腫瘍内に直接投与し、その後抗ウイルス剤であるガンシクロビルを全身投与する臨床研究を実施しました。本研究は2001年3月より第1例目の被験者の治療を開始し、2006年7月に最終登録例である9例目の被験者の治療を実施し、6ヶ月以上観察し臨床試験を終了としています（8名のべ9症例）。9症例すべてにおいて有意な副作用を認めませんでした。治療効果の指標として腫瘍マーカーであるPSAは9例中6例において低下し、安全性および治療効果が確認されました。

今回、私たちが計画している臨床研究では、ベイラー医科大学より提供されたインターロイキン12遺伝子を持つアデノウイルスベクターを使用して、治療を行う予定です。前述したように米国食品医薬品庁（FDA）によって、野生型アデノウイルスの混入の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。

#### 14. 患者さんの権利と義務ならびに注意点について

人権にかかる重要なことがらは最初に説明しましたが、念のためにもう一度以下のことを申し上げますので確認して下さい。

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、あるいは一度同意した後に、その同意を撤回して治療中止の申し出をされても、そ

の後の治療であなたが何ら不利益を受けないことを保証いたします。臨床研究の参加に同意されても、医療訴訟を提起されることや人権が制約されることはありません。

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岡山大学病院、あるいはそれと密接な関連を持つ医療施設（担当医師からお知らせします）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）あるいはコンピューター断層撮影（CT）を行います。なお、不幸にして何らかの原因でお亡くなりになった場合には、治療の効果を確認するために病理解剖にご協力下さいますようお願いいたします。

また注意していただきたい点として、本臨床研究実施中に他院・他科の診察を受ける場合には本遺伝子治療臨床研究を受けている旨を必ず他院・他科の担当医に報告し、本遺伝子治療臨床研究の担当医にも必ず報告してください。また他院・他科で処方された薬や、あなた自身が薬局で購入した薬がある場合、可能な限り服用前に本遺伝子治療臨床研究担当医に相談するとともに、服用後は必ず本遺伝子治療臨床研究担当医に報告してください。

また本臨床研究は遺伝子を用いるため、子孫への影響についてその安全性が明確ではありません。よって今後お子様をご希望されるかたは、その旨担当医にご相談ください。今回使用するアデノウイルスベクターがあなたの精液に一時的に混ざる可能性は極めて低いものと思われませんが、完全に否定はできません。そのため臨床研究実施期間中はコンドームを使った避妊を行う必要があります。

#### 15. 治療に関わる諸経費について

本臨床研究にかかわる入院中の一切の治療・検査経費に関しては岡山大学病院の公費ならびに研究費でまかなわれますので、あなたへの金銭的負担は発生しません。治療後の検査の場合、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となりますが、本臨床研究に特有の検査についてはすべて岡山大学病院の公費ならびに研究費で負担いたします。したがって、この臨床研究に参加することによって、今まで以上に余分なお金を負担していただくことはありません。

ただし、この臨床研究の期間内であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費には、これまでどおり公的医療保険が適応され、その医療費にかかる一部負担金等は負担していただきます。

#### 16. 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて

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に関する指針」の規定に従って、岡山大学病院の遺伝子治療臨床研究審査委員会、厚生科学審議会科学技術部会ならびにがん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて、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臨床研究はこのような手続きを経て承認された臨

床研究です。

#### 17. 同意の撤回について

臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することができます。同意を撤回された場合、その後の治療につ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。同意の撤回に際しては、撤回することを担当医師に口頭で伝え、その後、確認のために所定の同意撤回書を提出していただきます。

#### 18. 同意撤回後の資料取り扱いについて

同意を撤回される以前のあなたの臨床経過や検査結果ならびに保管されている臨床検体については貴重な資料となりますので、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。

#### 19. 個人情報の保護について

(1) あなたの診療記録および同意書など、この遺伝子治療臨床研究に伴う診療記録や臨床データは、以下の法律等の規定に基づき、岡山大学病院医事課で保管し秘密を厳守します。得られた臨床データはこの臨床研究に利用する他、この研究の結果を医学雑誌や学会、厚生労働省およびその審議会に報告することがありますが、あなたの個人情報は保護されます。なお、利用目的に変更が生じた場合には、改めてご連絡させていただきます。

- ① 個人情報の保護に関する法律（平成15年5月30日法律第57号）
- ② 遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成14年3月27日文部科学省・厚生労働省告示第1号）
- ③ 国立大学法人岡山大学医学部・歯学部附属病院の保有する個人情報の適切な管理のための措置に関する規程（平成17年3月24日施行）

(2) あなたは、この臨床研究により得られた、あなた自身が識別できる個人情報の開示を求めることができます。その際には、上記の指針・規定および「国立大学法人岡山大学の情報公開に関する規定」に照らし、開示の妥当性を判断します。患者さんが個人情報の開示を請求する場合は、無料といたします。ただし、実施にかかる手数料については、当院が定めた料金規程により納めていただきます。

(3) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合」には、訂正・追加または削除を求めることができます。訂正・追加または削除できない場合には、必要に応じてその旨を説明します。

(4) あなたは、この臨床研究により得られた「あなた自身が識別できる個人情報の内容が事実ではないと判断した場合、本臨床研究の目的達成に必要な範囲を超えて利用されていると判断した場合あるいは不正の手段により個人情報が取得されたものと判断した場合」には利用の停止または消去を求めることができます。その際には、総括責任医師が内容を調査し、違反が判明した場合には必要な措置を講じる

とともに、必要に応じてその旨を説明します。なお、利用の停止または消去ができない場合にも、必要に応じてその旨を説明します。

(5) 個人情報に関してあなたのご理解を深めていただくため、個人情報の保護に関する法律及び当病院の個人情報に関する院内規定を当病院のホームページ上に掲載しております (<http://www.uro.jp/okayama/index.html>)。また、個人情報の開示等に関する詳細な内容の照会や疑問等については、下記担当係にお問い合わせ願います。

○担当係： 岡山大学病院医事課患者支援係  
(電話 086-235-7205)

## 20. 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について

この臨床研究への参加者としてのあなたの権利や、研究に関連した障害などについて、何らかの問題や質問が生じたときには、岡山大学病院泌尿器科 (TEL 086-235-7287 または 086-235-7285, FAX 086-231-3986), または岡山大学病院総務課 (TEL 086-235-7507) にご連絡下さい。

## 21. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

### (1) 研究の名称

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究 (前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究)

### (2) 実施施設

岡山大学病院

連絡先：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学

TEL 086-235-7286

FAX 086-231-3986

### (3) 総括責任医師

公文裕巳 (岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学教授)

### (4) 試験担当医師

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分野准教授)

雑賀隆史 (岡山大学病院・泌尿器科講師)

賀来春紀 (岡山大学病院、遺伝子細胞治療センター助教)

江原 伸 (岡山大学病院・泌尿器科助教)

小林知子 (岡山大学病院・泌尿器科医員)

谷本竜太 (岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学大学院生)

## 前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。遺伝子治療臨床研究に参加することに同意します。また、上記臨床研究を行う上で必要な処置、及び上記臨床研究において予測されない状況が発生した場合、それに対応するための緊急処置を受けることも併せて同意します。

- はじめに
- 臨床研究について
- あなたの前立腺がんについて
- 遺伝子治療臨床研究の概要について
- アデノウイルスベクターについて
- 臨床研究の目的について
- 臨床研究の進め方について
- 適応判定について
- 遺伝子治療の方法とスケジュールについて
- 期待される治療効果について
- 安全性と副作用について
- 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象が生じた場合について
- 外国での状況について
- 患者さんの権利と義務ならびに注意点について
- 治療に関わる諸経費について
- 遺伝子治療臨床研究実施に必要な手続きについて
- プライバシーの保護について
- 同意の撤回について
- 同意撤回後の資料取り扱いについて
- 個人情報の保護について
- 緊急連絡先および質問の問い合わせ先について
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

以上の内容を証明するため、ここに署名、捺印いたします。

なお、私は組織生検の実施に、  同意いたします。  同意いたしません。

同意年月日 平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)  
連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)  
連絡先 \_\_\_\_\_  
患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)  
連絡先 \_\_\_\_\_  
患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

説明をした医師及び説明日

平成 年 月 日

\_\_\_\_\_  
(署名) \_\_\_\_\_ (印)  
(署名) \_\_\_\_\_ (印)

前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、研究協力を依頼され、同意書に署名しましたが、その同意を撤回する事を担当医師 \_\_\_\_\_ に口頭で伝え、確認のため、同意撤回書を提出します。

平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

添付書類 12-4.

前立腺がん遺伝子治療臨床研究  
継続投与に関する説明と同意書

# 目 次

1.	はじめに	2
2.	臨床研究について	2
3.	遺伝子治療臨床研究開始後の経過について	3
4.	継続投与について	3
5.	期待される治療効果について	4
6.	安全性と副作用について	4
7.	治療に関わる諸経費	6
8.	同意の撤回について	6
9.	同意撤回後の資料取り扱いについて	6
10.	緊急連絡先およびお問い合わせ先について	6
11.	遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制	7

最終頁 「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書」

「前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書」

# 遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書 (継続投与について)

## 説 明

### 1. はじめに

現在あなたは「前立腺癌に対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究」（以下「臨床研究」と略します）への参加を同意いただき、アデノウイルスベクターの投与を受けてこられました。

これから、現在までを受けてこられた遺伝子治療の安全性および効果に関するあなたの経過、治療を継続することで期待される効果、安全性、予想される副作用などについてご説明いたしますので、この臨床研究に被験者（患者）として引き続き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。

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し、わからない点があれば何度でも説明いたします。

このような臨床研究に参加される方の人権を守るため、あなたが臨床研究に参加することは、あくまでもあなたの自主性に基づいた自由意思によるものであることを前提として以下のことを約束します。

- a) 臨床研究に継続して参加することを私たちがお勧めして、あなたが拒否された場合も、今後の治療には不利益を受けることは一切ないこと。
- b) 臨床研究に継続して参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することが出来ること。

### 2. 臨床研究について

臨床研究（あるいは臨床試験）とは、新しく考え出された治療方法や薬物を患者さんのご協力を受けて投与することにより、実施の診療・治療の場で安全性や治療効果を検討することを言います。このような新しい治療法を一般的に実施し、広く患者さんが恩恵を受けることができるようにするためには、臨床研究を行い、安全性に問題がないか、そして治療効果があるかについて科学的な評価を受けなければなりません。

一般的に臨床研究は治療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段階（第一相試験）、第一相試験で定められた方法で治療を行い効果を調べる段階（第二相試験）、現在一般的に使われている治療や薬剤と比較する段階（第三相試験）に分けられます。

前立腺癌の遺伝子治療に限らず、遺伝子治療に関する臨床研究は、まだ研究段階の治療です。患者さんに行って、本当に効果があるかどうか、安全に行えるかどうか、わからないところもたくさんあります。今回、患者さんに紹介する臨床研究は治療の安全性を調べることを主たる目的（主要エンドポイントと呼びます）とし、同時に治療の効果も調べることを目的としており（副次エンドポイントと呼びます）第一／第二相試験に相当すると考えられます。

### 3. 遺伝子治療臨床研究開始後の経過について

あなたの場合、遺伝子治療開始後、重篤な副作用も認めず、安全性を評価する検査にも異常が認められなかったことから安全性についても問題ないと考えています。また、少なくともあなたの前立腺がんの病勢はPSAが治療前に比べて上昇していないか、もしくはCTなどの画像検査によって病変部が増大しておらず、また新病変も認めないことから、インターロイキン12遺伝子治療による効果があると考えています。したがって、この遺伝子治療を継続できる可能性があり、以下に継続投与に関する説明をさせていただきます。

#### 4. 継続投与について

##### 1) 継続投与の規定

当初の計画は注射後4週間、安全性について副作用の有無を調査し、重篤な副作用が認められなければ同様にアデノウイルスベクターを注射し、基本的には3回のアデノウイルスベクターの注射を行います。3回のアデノウイルスベクターの注射終了後に組織検査、コンピューター断層撮影（CT）、核磁気共鳴画像診断（MRI）などによって治療効果判定を行います。3回の投与による安全性が確認され、また治療効果によって、病状の悪化が認められず病状が改善もしくは不変と判定された場合、治療を引き続き続行することが可能です。この効果判定は腫瘍マーカーであるPSAまたはCTなどによる画像検査での判定となります。PSAが治療前に比べて上昇していないか、もしくは画像検査によって病変部が増大しておらず、あらたな病変も認めない場合が該当します。追加投与についてあなたの了解が得られた場合、それまでの治療に関するデータを含めて、追加投与の申請書を適応判定部会に提出します。この部会において治療を続行することが適切であると判断され、そしてあなたが再度同意書に自署又は捺印をして追加の遺伝子治療を受けることに同意されまると、追加治療が開始されることとなります。

##### 2) 投与の方法と量

いままで受けてこられた投与方法にて投与します、投与するアデノウイルスベクターの量も同じです。

##### 3) 継続投与の回数について

投与の回数に制限は設けませんが、あらかじめ定められた以下に示す「治療中止の判定基準」を満たす場合には投与を中止します。

- 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、（または）非可逆性で対症療法によって管理できない場合。
- ② 抗癌剤やIL-12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。

また投与を継続する場合は、今回と同様に3回目毎に引き続いて臨床研究に参加し投与をうけるかどうかご検討いただくこととなります。面倒でもその際には今回と同様な手順を毎回踏ませていただくこととなります。これは、継続的に投与することの安全性、倫理性、科学性を私たちだけで判断せず、客観的な目からも判断いただき、あなたの人権が損なわれることのないよう、この臨床研究を実施してゆくべきであるという考えに基づいています。

5. 期待される治療効果について

具体的な効果としては、腫瘍マーカーである前立腺特異抗原（PSA）が下降したり、上昇が止まることです。また、がんが原因で生じている症状が改善されることが期待されます。

6. 安全性と副作用について

この点については以前も説明させていただいておりますが、継続するかどうか判断いただくに際して重要な点ですので再度説明させていただきます。

1) インターロイキン 12 の安全性

インターロイキン 12 を投与する方法としては遺伝子を投与する方法と、遺伝子から作られたタンパク質そのものを投与する方法があります。またそれぞれを点滴や静脈注射で全身に投与する方法、皮下注射、癌病巣に直接注射する方法があります。これらの投与方法により副作用の出現の仕方が異なるためその点について詳しく述べます。

インターロイキン 12 は以前より癌に効果のある薬剤として注目されてきました。1995年インターロイキン 12 遺伝子より作られるインターロイキン 12 タンパク質の効果を調べる研究が米国でおこなわれました。この試験はインターロイキン 12 タンパク質を点滴にて5日間連続で全身に投与する方法にておこなわれましたが、2名の患者さんが大腸における潰瘍からの出血、多臓器不全、壊死性肺炎といった重篤な副作用で死亡するという事故が起きました。これは実際の投与を行う2週間前に一度テスト投与を行い様子を見て安全性を確認してから投与する方法をおこなわなかったためと判明しました。

その後、点滴で全身に投与する方法は中止され、皮下注射をおこなうことがおこなわれ副作用は低く抑えられるようになりました。副作用としては発熱、倦怠感、頭痛、悪寒、筋肉痛、一時的な血液検査の異常（好中球、リンパ球減少、血清トランスアミナーゼ、ビリルビンの上昇）が認められました。評価可能症例9例中5例において完全もしくは部分寛解が認められており、一定の治療効果が得られました。

さらに安全かつ効果的な方法としてインターロイキン 12 遺伝子を癌そのものに注入することで、腫瘍局所にインターロイキン 12 タンパク質が発現し、インターロイキン 12 タンパク質が全身的に広がらない方法が考案され研究されました。これが今回予定している遺伝子治療です。

## 2) アデノウイルスベクターの安全性

インターロイキン 12 遺伝子をがん細胞の中に入れるために、ウイルスを遺伝子の運び屋（ベクター）として用います。私たちはこの目的のためにアデノウイルスをベクターとして使います。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に、ウイルスの一部を欠損させる操作をしています。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能力のあるアデノウイルスが混入することは避けられません。

我々が使用するインターロイキン 12 遺伝子を持つアデノウイルスベクターは、米国のベイラー医科大学によって製造および検査され、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の可能性も含めて、ヒトへの使用が許可されたものです。先にも述べたようにアデノウイルスは、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。

しかし 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。この原因は、肝臓の血管内に高濃度のベクターを注入したために引き起こされたと考えられています。米国ベイラー医科大学で行われた単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを用いた前立腺癌遺伝子治療において 1 例で肝機能障害が認められました。この症例ではアデノウイルスベクターを注入する針が前立腺から外れて周囲の静脈に刺入し、血液内にベクターが流れ込んだ疑いが示唆されました。このために私たちは血管内に誤って投与することなく確実に前立腺内への注入が出来るような装置を使用します。すでに私たちは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを使って前立腺に直接投与する遺伝子治療臨床研究を同様の装置を使用して実施しましたが、確実に前立腺内に投与できることを確認しており重篤な副作用は認めておりません。ただし、米国ベイラー医科大学での単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターによる前立腺癌遺伝子治療では、20%に一過性の発熱などの副作用が認められています。

## 3) アデノウイルスベクターの投与方法による副作用

これまでの治療法と同じ方法でアデノウイルスベクターを注入します。前回は投与方法に関する副作用は認めませんでした。再度ご説明します。針を前立腺内、局所再発部または転移部に注入するため、出血、感染などの合併症が起こる可能性があります。通常は軽度のもので一時的に起こるだけで治療により軽快します。緊急処置を必要とするような激しい出血は非常にまれですが、万一この様なことが起こった場合には適切に処置を致します。また、感染を予防するために抗菌薬を使用します。抗菌薬の使用によって発疹などのアレルギー反応が生じることがありますが、点滴ならびに解毒薬によって改善します。腰椎麻酔を行う場合、腰椎麻酔後に頭痛などの副作用が起きることがあります。治療後から翌朝までベッド上安静を保つことで予防できますし、もし頭痛が生じた場合でも点滴を行うことによって症状は改善されます。

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こるかも知れません。あなたの病状については、本臨床研究の担当医師以外に、さきの安全・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時には、私たちは全力でそれに対処しますが、治療を中止する場合もあることを、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させていただきます。

#### 7. 治療に関わる諸経費

今までと同じく、本臨床研究の入院中の一切の治療・検査経費に関しては岡山大学病院の公費ならびに研究費でまかなわれますので、あなたへの金銭的負担は発生しません。治療後の検査の場合、あなたの病状に関わるものであるものについては保険適応となりますが、本臨床研究に特有の検査についてはすべて岡山大学病院の公費ならびに研究費で負担いたします。

#### 8. 同意の撤回について

臨床研究に参加することをいったん同意した後や臨床研究が開始されてからでも、いつでもあなたの希望に従い研究参加の同意を撤回することができます。同意を撤回された場合、その後の治療につ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。同意の撤回に際しては、撤回することを担当医師に口頭で伝え、その後確認のために所定の同意撤回書を提出していただきます。

#### 9. 同意撤回後の資料取り扱いについて

同意を撤回される以前のあなたの臨床経過や検査結果ならびに保管されている臨床検体については貴重な資料となりますので、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。

#### 10. 緊急連絡先およびお問い合わせ先について

緊急時、またこの臨床研究について、何らかの問題や質問が生じたときには、下記にご連絡ください。

○岡山大学病院泌尿器科

(TEL 086-235-7287 または 086-235-7285, FAX 086-231-3986)

○岡山大学病院総務課 (TEL 086-235-7507)

## 1 1. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

### (1) 研究の名称

前立腺癌に対する Interleukin-12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究（前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究）

### (2) 実施施設

岡山大学病院

連絡先：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学

TEL 086-235-7286

FAX 086-231-3986

### (3) 総括責任医師

公文裕巳（岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学教授）

### (4) 試験担当医師

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分野准教授）

雑賀隆史（岡山大学病院・泌尿器科講師）

賀来春紀（岡山大学病院、遺伝子細胞治療センター助教）

江原 伸（岡山大学病院・泌尿器科助教）

小林知子（岡山大学病院・泌尿器科医員）

谷本竜太（岡山大学・大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学大学院生）

前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意書  
(継続投与について)

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究の継続投与について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。遺伝子治療臨床研究に引き続き参加することに同意します。また、上記臨床研究を行う上で必要な処置、及び上記臨床研究において予測されない状況が発生した場合、それに対応するための緊急処置を受けることも併せて同意します。

- はじめに
- 臨床研究について
- 遺伝子治療臨床研究開始後の経過について
- 継続投与について
- 期待される治療効果について
- 安全性と副作用について
- 治療に関わる諸経費
- 同意の撤回について
- 同意撤回後の資料取り扱いについて
- 緊急連絡先およびお問い合わせ先について
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） (印)  
連絡先

家族あるいは親族（署名又は捺印） (印)  
連絡先  
患者さんとの関係

立会人（署名又は捺印） (印)  
連絡先  
患者さんとの関係

説明をした医師及び説明日

平成 年 月 日

(署名) (印)

(署名) (印)

前立腺がん遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書

岡山大学病院

病 院 長 殿

私は、前立腺がんに対するインターロイキン 12 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究について、研究協力を依頼され、同意書に署名しましたが、その同意を撤回する事を担当医師 \_\_\_\_\_ に口頭で伝え、確認のため、同意撤回書を提出します。

平成 年 月 日

患者氏名（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

家族あるいは親族（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_

立会人（署名又は捺印） \_\_\_\_\_ (印)

連絡先 \_\_\_\_\_

患者さんとの関係 \_\_\_\_\_