

遺伝子治療臨床研究実施計画について

【 岡山大学病院 】

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

遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

- 審査委員会の意見 P. 1
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書 及び概要書
(改訂版) P. 7
- 実施計画書 (改訂版) P. 23
- 説明同意文書 (改訂版) P. 109

遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する 法律に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について

- 審査委員会の意見 P. 133
- 第一種使用規程承認申請書 (改訂版) P. 135
- 生物多様性影響評価書 (改訂版) P. 139

遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会 名簿 P. 171

平成 26 年 2 月 18 日

岡山大学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

遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会
委員長 山口 照英

岡山大学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、本審査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. 悪性胸膜中皮腫に対する **Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3** 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究

申請者：岡山大学病院 病院長 槇野 博史

申請日：平成 25 年 8 月 8 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

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

(2) 申請年月日: 平成 25 年 8 月 8 日

(3) 実施施設: 岡山大学病院
代表者: 病院長 榎野 博史

(4) 総括責任者: 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
臨床遺伝子医療学 教授 豊岡 伸一

(5) 対象疾患: 悪性胸膜中皮腫

導入遺伝子: Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3
(REIC/Dkk-3) 遺伝子

ベクターの種類: アデノウイルスベクター

用法・用量: 局所麻酔下、胸腔内又は腫瘍内(病変部)に REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液(生理食塩水で希釈し、胸腔内投与では 50ml に、病変部投与では 1-2ml に調整する。)を注入する。投与量は、 $1.0 \times 10^{11}\text{vp}$ 、 $3.0 \times 10^{11}\text{vp}$ 、 $1.0 \times 10^{12}\text{vp}$ 、 $3.0 \times 10^{12}\text{vp}$ の 4 群とする。なお、症例に応じ、2 回目以降の投与を行う場合がある。

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治療終了後 5 年間

目標症例数: 12 例(4 段階の投与量群×各群 3 例。重篤な有害事象の発現状況に応じて、安全性評価のため症例数の追加を行う。最大 24 例。)

(6) 研究の概略:

本研究は、悪性胸膜中皮腫を対象として、REIC/Dkk-3 遺伝子(細胞のアポトーシスを司る遺伝子であり、種々のがん細胞で発現が低下している。)を発現するアデノウイルスベクターを投与した場合の安全性の検討を行うことを主目的とし、併せて治療効果と当該遺伝子治療における有効性を来す可能性のある免疫学的な反応を解析することを目的とした第 I/II 相臨床研究である。

(7) その他(外国での状況等):

岡山大学病院において、同様の REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター(注)を用いて、前立腺がんを対象とした遺伝子治療臨床研究が実施されている(平成 23 年 1 月厚生労働大臣承認)。平成 25 年 7 月までに 20 症例に対して治療が実施

され、grade1～2の発熱が見られたものの重篤な副作用は認められておらず、安全性が確認されていると報告されている。

なお、悪性胸膜中皮腫を対象とした遺伝子治療としては、国内では千葉大学医学部附属病院からNK4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が実施されている（平成25年8月厚生労働大臣承認）。

（注）本研究で用いるアデノウイルスベクターとは、発現遺伝子は同一であるが、プロモーターが異なる（本研究ではプロモーターがCMVであるのに対し、前立腺がんに対する臨床研究ではプロモーターがCAGである。）。

2. 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会における審議概要

1) 事前の意見・照会事項及びその回答

審査委員会の開催に先立ち、各委員より申請者に対して、遺伝子治療臨床研究実施計画申請書等に係る意見・照会事項を送付し、平成25年12月5日に申請者よりそれに対する回答を得た。主な意見・照会事項及び回答の概要は以下の通りである。

（審査委員会からの主な意見・照会事項及びそれに対する回答）

ア. 前立腺がんに対する臨床研究で用いられたベクター（CAGプロモーター）について実施された安全性試験等が、改変後のベクター（CMVプロモーター）の安全性評価等にどの程度利用可能か。

【回答】両ベクターには構造上の違いがあるものの、挿入されたREIC/Dkk-3遺伝子を発現しREIC/Dkk-3タンパク質を発現するという点では全く同じ機能を有する。実施計画書にはその同等性について記載しており、前立腺がんに対する臨床研究で用いられたベクター（CAGプロモーター）について実施された安全性試験等は、改変後のベクター（CMVプロモーター）の安全性評価等にすべて利用可能であると考えます。

イ. 本研究で用いるアデノウイルスベクターは前立腺がんに対する臨床研究で同様のものが使用されているものの、本研究の対象疾患は悪性胸膜中皮腫であることから、前臨床研究レベルでは前立腺がんの場合と同等の検討がなされるべき。

【回答】追加の実験として、各種のヒト悪性中皮腫由来細胞6種類及び不死化中皮細胞1種類を用いて殺細胞効果に関するin vitro研究を実施した。その結果、ヒト悪性中皮腫由来細胞株6種類のうち4種類で顕著な殺細胞効果が認められ（他2種類では効果が認められなかった）、また、不死化中皮細胞においても細胞死誘導効果が認められた。なお、211H細胞以外の他のヒト悪性中皮腫細胞株を用いたin vivo研究については、ヌードマウスでの腫瘍モデルが作成できていないことから、実施していない。

ウ. 胸腔内投与の場合は、アデノウイルスベクターの吸着・侵入において腫瘍選択性はなく、正常中皮細胞への遺伝子導入が避けられないため、その点に関する安全性評価が必要である。また、その他の胸腔内及び腹腔内臓器への移行等の可能性につ

いても評価すること。

【回答】胸腔内投与の場合はアデノウイルスベクターの吸着・侵入等による正常中皮細胞への遺伝子導入が避けられないと考えられるが、アデノウイルスベクターを胸腔内投与したマウスの実験においては、明らかな副作用、毒性等を認めず、また、投与後 14 日目の各臓器の組織学的解析においても明らかな組織学的異常を認めなかった。

アデノウイルスベクターの胸腔内および腹腔内臓器への移行等の可能性は否定できないものの、上記動物実験において臨床研究の開始ドーズ（投与レベル 1）の 300 倍～3,000 倍に相当する過剰な量を投与して明らかな毒性を認めなかったことを踏まえると、正常細胞への REIC/Dkk-3 遺伝子導入による影響は、個体の安全性を脅かすものではないと考える。

以上の点について実施計画書に追記した。

エ. 胸腔内投与と腫瘍内（病変部）投与とで有効性・安全性は同様と考えられるのか。

【回答】マウスを用いた実験における胸腔内又は腫瘍内に投与した場合の有効性・安全性に関する検討の結果等から、胸腔内投与と腫瘍内投与のいずれの投与法においても同様に有効性・安全性が期待できると判断される。

オ. 個々の患者において、どのような場合に胸腔内に投与し、どのような場合に腫瘍内（病変部）に投与するか判断基準について、その理由とともに説明すること。

【回答】原則として胸水が貯留しており、胸腔内に安全にアデノウイルスベクターを投与できる症例を、胸腔内投与の対象症例とする。また、胸水の貯留が少なく、安全に胸腔内に投与できない症例も存在するため、そのような症例については腫瘍内投与が必要と考える。

2) 審査委員会における審議

① 開催日時： 平成 25 年 1 月 9 日(木) 14:00～15:45

② 議事概要：

平成 25 年 8 月 8 日付けで岡山大学病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：悪性胸膜中皮腫）についての審議を行った。

まず、実施計画について総括責任者等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が行われた。その結果、申請のあった実施計画について、概ね妥当であるが、投与部位（胸腔内又は胸部腫瘍内）を考慮したウイルスのモニタリング方法、同意説明文書の記載内容等について確認した後、科学技術部に報告することとされた。

なお、指摘事項は平成 26 年 1 月 16 日に発出され、申請者より平成 26 年 1 月 24 日に回答が提出された。

指摘事項の内容及び回答の概要は以下の通りである。

(審査委員会からの主な意見・照会事項及びそれに対する回答)

ア. アデノウイルスベクター投与後のウイルスのモニタリングについて、投与部位が胸腔内又は胸部腫瘍内であることを踏まえ、血液及び尿に加え、喀痰の検査を実施することを検討すること。

【回答】喀痰の検査を実施することとし、実施計画書を修正した。

イ. 本研究において被験者への2回目の投与を実施する可能性を想定しているのであれば、具体的な実施方法やその安全性等について、実施計画書及び同意説明文書に記載すること。

【回答】本研究においては、被験者への2回目の投与を実施する可能性があり、具体的には血液中のアデノウイルスの中和抗体価を測定して投与法を決定する。また、追加投与の安全性については、現在実施中の前立腺がんを対象した臨床研究において本研究と同様のREIC/Dkk-3遺伝子を発現するアデノウイルスベクターが複数回投与されており、重篤な副作用を認めていない。

以上の点について、実施計画書及び同意説明文書にそれぞれ追記した。

ウ. 胸腔内又は胸部腫瘍内への投与に伴い気胸が生じる可能性があるため、同意説明文書において当該副作用についても記載すること。

【回答】同意説明文の「アデノウイルスベクターの投与法による副作用」の項目に、気胸に関する説明を追記した。

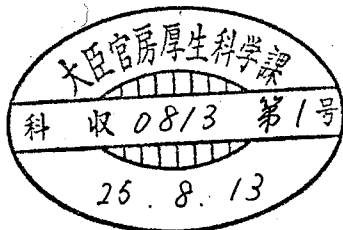
エ. 実施計画書及び同意説明文書について、研究に要する費用の資金源や企業との関係など本研究における利益相反の状況を記載すること。

【回答】本研究の実施に必要な費用は原則として公募される研究開発費等の競争的資金により賄われること、また、本研究で投与されるアデノウイルスベクターは、岡山大学発のベンチャー企業（岡山大学と当該ベクターについて共同研究を実施している。）より提供されることを、実施計画書及び同意説明文書にそれぞれ追記した。

3. 遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の検討結果

岡山大学病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：悪性胸膜中皮腫）に関して、遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会は、主として科学的観点から以上のとおり論点整理を進め、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、本審査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。



別紙様式第1

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成 25 年 8 月 8 日

厚生労働大臣 殿

実施施設	所在地	岡山県岡山市北区鹿田町 2 丁目 5 番 1 号 (郵便番号 700-8558)
	名称	岡山大学病院 (電話番号 086-223-7151) (Fax 番号 086-235-7636)
	代表者 役職名・氏名	岡山大学病院長 榎野博史

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
悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 臨床遺伝子医療学・教授 豊岡伸一

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 実 施 計 画 概 要 書

平成 25 年 8 月 8 日

研究の名称	悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成 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	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (郵便番号 700-8558)	
	所属機関・部局・職	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学・教授	
	氏 名	豊 岡 伸 一 	
実施施設	所 在 地	岡山市北区鹿田町 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(呼吸器・乳腺内分泌外科) 及び岡山大学病院	
	連 絡 先	岡山市北区鹿田町 2-5-1 (電話番号 086-235-7265) 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 (呼吸器・乳腺内分泌外科)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所属機関・部局・職	役 割
	宗 淳 一	岡山大学病院 呼吸器外科・助教	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、臨床効果判定
	山 根 正 修	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 医学教育リノベーションセンター・准教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定
	大 藤 剛 宏	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 呼吸器・乳腺内分泌外科学・准教授	患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察
	三 好 新一郎	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 呼吸器・乳腺内分泌外科学・教授	患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定
	堀 田 勝 幸	岡山大学病院呼吸器・アレルギー内科・助教	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの調製、ベクターの投与、臨床効果判定
	田 端 雅 弘	岡山大学病院 腫瘍センター・准教授	患者の選定、臨床効果判定、臨床観察

総括責任者以外の研究者	木 浦 勝 行	岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科・教授	患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定、臨床効果判定
	谷 本 光 音	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学・教授	患者の選定、臨床観察、臨床効果判定
	平 木 隆 夫	岡山大学病院 放射線科・講師	ベクター投与、画像効果判定
	郷 原 英 夫	岡山大学病院 放射線科・講師	ベクター投与、画像効果判定
	金 澤 右	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医学・教授	ベクター投与、画像効果判定
	渡 部 昌 実	岡山大学病院 新医療研究開発センター・准教授	ベクターの調製、ベクターの管理、基礎的効果判定
	那 須 保 友	岡山大学病院 新医療研究開発センター・教授	総括責任者の補佐、研究全体の総合的支援、関係省庁との調整
研究協力者	公 文 裕 巳	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(研究全般)
	大 槻 剛 巳	川崎医科大学衛生学・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(免疫学的事項)
	岡 部 和 倫	国立病院機構山口宇部医療センター・統括診療部長・呼吸器外科科長	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)
	岸 本 卓 巳	独立行政法人労働者健康福祉機構岡山労災病院・副院長	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)
	中 野 孝 司	兵庫医科大学呼吸器内科・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)
	樋 野 興 夫	順天堂大学医学部病理・腫瘍学講座・教授	研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

Steven Albelda	University of Pennsylvania Medical Center, Pulmonary, Allergy & Critical Care Division, William Maul Measey Professor of Medicine	研究の円滑な遂行のため の包括的アドバイス (臨床的事項) 米国における関連情報 の提供
塩 見 均	桃太郎源株式会社 代表取締役社長	アデノウイルスベクタ ーの供与
審査委員会が研究計画 の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書「悪性 胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝 子治療臨床研究」を慎重に審査した結果、本遺伝子治療臨床研究実 施計画は、遺伝子治療臨床研究に関する指針（平成 14 年文部科学 省・厚生労働省告示第 1 号、平成 16 年文部科学省・厚生労働省告示 第 2 号により全部改正、平成 20 年文部科学省・厚生労働省告示第 2 号により一部改正）の必要条件をすべて満たしていると認められた ため、所轄官庁に遺伝子治療臨床研究実施計画を申請することを決 定した。	
審査委員会の長の職名		氏 名
岡山大学病院 遺伝子治療 臨床研究審査委員会 委員長		伊達 勲 

研究の区分	○遺伝子治療臨床研究	遺伝子治療標識研究
研究の目的	本臨床研究は、悪性胸膜中皮腫に対し Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (以下、REIC/Dkk-3) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合、 1) 安全性の検討（最大耐量の推定）を行うことを本試験の主な目的とする（主要エンドポイント）。 2) 治療効果の観察（評価可能症例）を行い、治療効果を総合的に判定する（副次エンドポイント）。 3) 当該遺伝子治療における有効性を来す可能性のある免疫学的な反応を解析するとともに、治療効果の病理学的評価を行う（副次エンドポイント） 悪性胸膜中皮腫症例に対して、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で胸水または局所病巣内に直接投与する。 その際の質的、量的安全性を確認し、治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる、組織学的、分子生物学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの REIC/Dkk-3 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II 相試験とする。 本臨床研究は岡山大学前立腺がん遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、悪性胸膜中皮腫臨床プロトコル検討委員会を含む研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。 本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは桃太郎源株式会社より供給される。	
対象患者及びその選定理由	1. 対象疾患 本臨床研究では悪性胸膜中皮腫と診断され、選択基準に該当し、除外基準に抵触しない患者を対象とする。 2. 対象疾患の選定理由 (対象疾患に対する現時点での知見) 悪性胸膜中皮腫は、アスベストへの曝露を原因として発症するとされ、実際にアスベストを吸入してから悪性胸膜中皮腫を発症するまで 20 年から 40 年の潜伏期間があると言われているが、米国では早期のアスベスト規制の結果、すでに 2004 年をピークに悪性胸膜中皮腫の患者数、死亡数とも減少傾向に向かっている。 一方、規制の遅れた日本では、悪性胸膜中皮腫の患者は、1980 年代前半には年間 100 人程度であったが、95 年に 500 人、2004 年には 953 人となっている。1960 年代以降のアスベストの輸入量増加や広範な利用状況を考慮すれば、2025 年にピークに達し、今後 40 年間の死亡者は 10 万 3000 人に達すると推計されている。 さらに、欧州における患者数のピークは 2015 年から 20 年で、今後の 40 年間の死亡者は 25 万人とされ、経済成長の著しい中国やインドにおいては、アスベストの使用は未だに禁止されておらず、早晚、大量の患者が発生すると考えられている。 このように、世界的に増加が推定される悪性胸膜中皮腫患者に対する治療薬のニーズは高まると予測されるが、現時点で悪性胸膜中皮腫に対する治療薬としては顕著に有効な薬剤はない。米国で 2004 年に、日本で 2007 年に承認されたペメトレキセド（商品名：アリムタ）においても、シスプラチンとの併用で延命効果があることが示されているものの、臨床試験に参加した症例では 1 年生存期間中央値 12.1 カ月、1 年生存率 50.3%と限定的なもので、新しい薬剤の開発が強く望まれている。 (REIC/Dickkopf-3 による遺伝子治療に関する現時点での知見) 新規がん治療遺伝子 REIC/Dickkopf-3 は、2000 年に、岡山大学での細胞の不老化の研究の過程において、ヒト正常線維芽細胞の不老化に伴って発現が減弱する遺伝子として同定された遺伝子⁴⁾で、細胞のアポトーシスを司る遺伝子と考えられている。後に、アフリカツメガエルの頭部形成に関わる Dkk (dickkopf) 遺伝子ファミリーの Dkk-3 と相同であることが明らかになった。	

	REIC/Dkk-3 遺伝子は正常細胞では発現しているが、種々のがん細胞（非小細胞肺癌、腎がん、前立腺がん、精巣がん、悪性胸膜中皮腫）で発現が低下しており、これらのがん細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、対照とした正常細胞には傷害を与えず、がん細胞選択的に小胞体ストレスによるアポトーシスが誘導された。前立腺がんでは、研究協力者・分担者である公文・那須らのグループにおける検討で、マウス前立腺がん同所移植モデルを用いた前臨床試験において、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター（以下、Ad-REIC）の局所投与により、①局所前立腺腫瘍の発育抑制、②肺及びリンパ節転移の抑制という全身効果、③生存期間の延長効果が確認され、原発巣のみならず転移病巣の治療も目的とした REIC/Dkk-3 遺伝子の局所投与の有用性が明らかにされた。すなわち、局所への遺伝子導入（<i>in situ</i> gene therapy）により、局所での腫瘍退縮とともに、全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠が明らかにされている。 選択的細胞死による直接的な抗腫瘍効果のみならず、REIC 遺伝子により産生される分泌型 REIC タンパクは、樹状細胞様細胞の分化誘導能を有している。このことは、Ad-REIC による局所遺伝子治療は、腫瘍局所において選択的細胞死の結果生じる‘がん細胞膜断片（がん抗原）’の樹状細胞様細胞への取込みによる特異的な細胞傷害性 T 細胞を誘導するという、自己がんワクチン化のための最適環境を構築する治療法として位置づけることができる。さらに、Ad-REIC の局所腫瘍内投与は、腫瘍組織内間質細胞などからの Interleukin-7 (IL-7) の産生による NK 細胞の活性化も同時に惹起されることから、これらの相乗的な抗がん免疫の賦活化作用の結果として、局所がん病巣のみならず遠隔転移病巣への顕著な治療効果が存在することが動物実験において実証されている（6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究に詳細を記載）。これらの研究を踏まえ前立腺がんを対象とした臨床研究はすでに実施承認されている（平成 23 年 1 月 25 日実施）。 悪性胸膜中皮腫に対しても臨床研究の導入を企図して同様の研究が実施された（6-3-4-1. 悪性胸膜中皮腫での基礎的研究）。Ad-REIC の局所投与により、①局所腫瘍の発育抑制、②生存期間の延長効果が確認され、③遠隔病巣の発育抑制という全身効果も確認された。これらの結果は前立腺がんを対象とした前臨床研究と同等のものであり、悪性胸膜中皮腫を対象に臨床研究を開始するための科学的根拠となり得る。 安全性という観点においても種々の検討が実施されている。Ad-REIC による各種正常細胞に対する細胞毒性について解析を行ったが明らかな細胞毒性は認められていない（6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析）。また、投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。さらに、正常細胞においても REIC は強く発現しており、Ad-REIC の局所投与にともなう全身的な随伴症状（副作用）はほとんどないものと考えられる。 以上のように、悪性胸膜中皮腫は現存の治療薬だけでは十分な有用性が得られていないこと、悪性胸膜中皮腫において REIC の発現が 90%以上の症例において抑制されていることさらに前臨床研究（<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i>）における安全性、有効性に関する良好な結果より、悪性胸膜中皮腫に対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療は効果が期待されと考え、アデノウイルスベクターにより REIC/Dkk-3 遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。
遺伝子の種類及びその導入方法	1. ヒトに導入する REIC/Dkk-3 遺伝子の構造、性質、活性（遺伝子の構造） 導入を企図する遺伝子は、Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) タンパク質の全ての翻訳領域を含む遺伝子である。ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現 pAxCwt（コスミドカセットであり、日本国の RIKEN BioResource Center の Recombinant Virus Database No. 1678 より情報を得た）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 PerC6 細胞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。REIC/Dkk-3 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または胸腔内投与することにより REIC/Dkk-3 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・胸腔内投与に適していると思われる。

(REIC/Dkk-3 遺伝子の生物活性)

REIC/Dkk-3 は分子量 38.3kDa の糖タンパク質で、N 末端に 1 つのシグナルペプチドとシステインドメイン、coiled-coil ドメインをそれぞれ 2 つずつ有する 350 のアミノ酸より構成される。REIC/Dkk-3 は Dkk ファミリーと呼ばれる分泌型蛋白群の一種で、Wnt 受容体を介して Wnt シグナル伝達を阻害することが知られている。

REIC/Dkk-3 は腫瘍特異的細胞アポトーシスを誘導する機能を有していると考えられており、その機序として、c-Jun-N-terminal kinase (JNK) を活性させることでの、Bax のミトコンドリアへの移行促進作用が考えられている。一連の研究において、種々のがん腫で (非小細胞肺癌、腎がん、前立腺がん、精巣がん) で REIC/Dkk-3 の発現が低下しており、その機序として、REIC/Dkk-3 遺伝子プロモーターの過メチル化が指摘されている。これらの腫瘍細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、腫瘍細胞のアポトーシスが誘導された。

一方、正常細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させてもアポトーシスが生ずることはほとんどなく、REIC/Dkk-3 には腫瘍特異的なアポトーシス誘導作用がある。その機序として小胞体ストレスが関与することを我々は解明した。すなわち、本来がん細胞では REIC/Dkk-3 タンパク質発現が抑制されているため、REIC/Dkk-3 ががん細胞において強制発現され多量の REIC/Dkk-3 タンパク質が細胞内の小胞体において作られる場合、がん細胞においてより選択的に小胞体ストレスが発生すると考えられる。このことが、REIC/Dkk-3 タンパク質の強制発現による腫瘍特異的細胞アポトーシス誘導の一つの機序と考えられる。

さらに分泌型 REIC タンパクによる樹状細胞の分化誘導作用と正常細胞での IL-7 の産生に基づく NK 細胞の活性化による相乗的抗がん免疫活性化作用が確認されている。

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 REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、(株) 桃太郎源社が製造委託した、米国のペイラー医科大学で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。

(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、岡山大学病院にて患者 (必要な場合は患者及び代諾者^{注)}) に対し、文書による説明 (第 1 回目) を行い、文書による同意が得られた場合に限り本臨床研究に患者登録し、治療前検査を開始する。

^{注)} 代諾者とは被験者の配偶者、後見人、その他これらに準じる者 (成人の子、親、成人の兄弟姉妹など) をさす。

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。同部会において本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者 (必要な場合は患者及び代諾者) に対し、文書による説明 (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 (悪性胸膜中皮腫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。同意書は 2 部作成し、署名又は記名捺印された 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。

文書によ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) 投与当日、岡山大学病院北病棟 5 階新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室に -80℃ で凍結保管してある REIC/Dkk-3 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同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。 2) REIC/Dkk-3 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、保冷下で岡山大学病院総合診療棟 IVR-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。 4) 岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室にて、原則として局所麻酔を施行し、CT ガイド下に、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を、胸水貯留を認める胸腔中、または評価可能な 1 病変部に注入する。ウイルスベクター液の注入量は胸水中（胸腔）へは 50ml、病変部には 1-2ml とする。胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち注入する。 注入後の岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室内の消毒、清掃は専門業者（医療関連サービスマーク認定）に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。投与から 4 週後に臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。 ベクター投与量は、ベクター粒子数 (vp: viral particle) 漸増式に 4 段階とし、用量レベル上昇の適応評価については、それぞれのステージの投与 4 週以降に安全・効果評価・適応判定部会を開催し、全ての症例について投与 4 週間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。
これまでの研究成果（臨床に関して）	1. REIC/Dkk-3 遺伝子治療に関して 1) 国内の状況 岡山大学は前立腺がんを対象とした臨床研究を二つの病態群を対象として実施中である。カテゴリー A：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん、カテゴリー B：外科的切除の適応のあるハイリスク初発限局性前立腺がん（ネオアジュバント投与） 当該臨床研究は平成 22 年 12 月 22 日厚生科学審議会科学技術部会において承認（平成 23 年 1 月 6 日付け 厚生労働大臣意見書発出）されており、平成 23 年 1 月 25 日に第 1 例目を実施した。平成 25 年 7 月現在までに計 20 症例（A 群 6 例及び B 群 14 例）で治療が実施され、主要エンドポイントである Ad-REIC を用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。 2) 国外の状況 桃太郎源株式会社は、前立腺がんを対象に米国での臨床研究実施を計画し FDA との事前協議（平成 20 年 11 月）、Pre-preIND 会議（平成 21 年 1 月）、ワシントン DC での Pre-IND 会議（平成 21 年）を実施し、平成 22 年 3 月に Ad-REIC 製剤を、米国 FDA に IND (Investigational New Drug) 申請、NIH の RAC (Recombinant DNA Advisory Committee・平成 22 年 3 月) 公聴会を通過、平成 22 年 3 月 31 日付けで IND を通過した。ニューヨークマウントサイナイ病院での「再発高リスク限局性前立腺がんを対象とする術前治療」ネオアジュバント遺伝子治療として実施する予定である。（平成 25 年 8 月の時点では症例の組み入れは行われていない。） 3) 使用する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターについて 本申請遺伝子治療臨床研究において悪性胸膜中皮腫症例に対して投与する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、CMV プロモーターを搭載した Ad-CMV-REIC 製剤である（添付資料 12-3、12-4 に詳細を記載）。現在、岡山大学病院で実施されている前立腺がんに対する Ad-REIC による臨床研究において用いられているのは CAG プロモーターを搭載した Ad-CAG-REIC 製剤である。Ad-REIC の安全性・効能がプロモーター（CMV プロモーターか CAG プロモーターか）によって差が無い（同等である）ことを証明する為の実験を行った。結論として、Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤は、その効能についておおむね同等であることが証明された。 2. 悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療について 1) 国内の状況 申請書提出時点（平成 25 年 8 月）では悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療は本

邦では実施されていない。

しかし千葉大学において「切除不能悪性胸膜中皮腫を対象としたNK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる第Ⅰ相臨床研究」が予定されておりすでに実施に係る審査は終了し厚生科学会議科学技術部会において実施に差支えない旨の意見が出されている。

2) 海外の実施状況

世界的には米国のペンシルベニア大学、オーストラリアの西オーストラリア大学で行われている。ペンシルベニア大学での遺伝子治療はAlbeldaらのグループにより行われ、論文発表されているものとして、①Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk)を組み込んだアデノウイルスベクターの胸腔内投与とガンシクロピルの全身投与を組み合わせた遺伝子治療、②インターフェロンベータ (IFN-beta)を組み込んだアデノウイルスベクター胸腔内投与による遺伝子治療、がある。

① HSV-tk による遺伝子治療の臨床第1相試験は1995年11月から開始された。HSV-tk 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを1回、胸腔内に直接投与し、その後ガンシクロピルの全身投与を行った。21人の未治療の悪性中皮腫患者に対して投与するウイルス量を約3倍ずつ上げ、 5.0×10^{13} vpまで達したが、重篤な副作用は認めず、最大耐量には達しなかった[一過性リンパ球減少 (grade 4) 1例、肝機能異常 (grade 3) 1例、その他、軽度の一過性の発熱、低酸素血症)、低血圧)、肝機能異常、低酸素血症など]。抗腫瘍効果としては21例中18例が効果を判定するのに十分な期間を得ており、うち3例が1998年2月の段階で画像上腫瘍の進行を認めなかった。その後、HSV-tk 遺伝子治療はステロイドを追加した投与法に変更し5名の患者に施行、また、1998年6月からは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子はそのまにウイルスの他の構造をより安全に変更したウイルスベクターを用いて(E1/E3 欠失ウイルスからE1/E4 欠失ウイルスへ変更)8例に治療を行った。すなわち、合計34名の患者にHSV-tk 遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターが投与された。追加の症例においても重篤な副作用は認めらなかった。この追加症例のうち2例において6.5年以上の長期生存を認めている(2005年論文発表時)。この2名のPositron Emission Tomography (PET) 検査では腫瘍部における、2-deoxy-2-[F-18] fluoro-D-glucose (FDG) の取り込みの低下が確認された(2011年3月の時点で生存例は1例、10年以上の長期生存、もう1例は治療後約8年後死亡。Dr. Albelda, personal communication)。

② IFN-beta を組み込んだアデノウイルスベクターによる悪性胸水例に対する遺伝子治療の臨床第1相試験が2003年8月から開始された。投与は、胸腔内投与1回であり、悪性胸膜中皮腫7例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌2例、卵巣がん1例に行われた。投与開始量である 9.0×10^{11} vpでは重篤な副作用は認められなかったが、1段階投与量を上げたウイルス量の 3.0×10^{12} vpでは4例中2例で重篤な低酸素血症 (grade 3)、肝機能障害 (grade 3) をそれぞれ認めた。低酸素血症を認めた症例は併存疾患として慢性心不全を伴う症例であり、肝機能障

害を認めた症例は、以前、悪性リンパ腫のため腹部に放射線治療の既往がある症例であった。この結果、最大耐量は 9.0×10^{11} vp と決定された。悪性胸膜中皮腫 7 例の治療効果に関しては、投与後 60 日の CT の評価において 4 例で腫瘍の大きさは変わらず、3 例で腫瘍の増大を認めた。また PET 検査では 3 例で不変、1 例で FDG の取り込みの低下を認めた。生存に関しては研究が発表された 2007 年時点で、生存例は 3 例（34 ヶ月、32 ヶ月、26 ヶ月）であった（2011 年 3 月時点では 3 例とも死亡）。

また 2006 年 9 月から、同じく IFN-beta を組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が行われた。対象疾患の内訳は悪性胸膜中皮腫 10 例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 例、卵巣がん 2 例、乳がん 2 名であり、開始後 14 名は投与間隔を 2 週間、残りの 3 名は投与間隔を 1 週間と設定された。投与ウイルス量は 3.0×10^{11} vp $\sim$ 3.0×10^{12} vp で行われた。安全性に関しては、ほとんどが予測可能な軽度から中等度の副作用であったが（リンパ球減少、低アルブミン血症、低血圧、低カルシウム血症、発熱と震え、吐き気、頻脈など）2 例に予期せぬ副作用が認められた。1 例目は 1 回目の投与後、部分トロンボプラスチン時間値が上昇し、2 回目の投与基準を満たせず 1 回投与のみとなった。しかしながら、長期の経過観察期間中、出血、凝固異常も含め特に症状は出現しなかった。2 例目は、2 回目のウイルスベクター投与後 14 日の間に心タンポナーデを発症した症例である。呼吸困難の増悪、嘔吐の症状があり、心嚢ドレナージを行った。原因は 2 回目投与の際に起こった、炎症反応によるものと推測された。このため今回の REIC 遺伝子治療においても、安全性の確保のため、明らかな心嚢水を有する場合を除外基準として設定している。腫瘍の縮小効果として悪性胸膜中皮腫 10 例中病変部の大きさが評価可能であった 8 例を検討したところ、投与後 2 か月の評価において 2 例で不変、6 例で腫瘍の増大を認めた。生存に関しては論文が発表された 2010 年時点で、3 例の生存例（42 ヶ月、39 ヶ月、18 ヶ月）を認めた（2011 年 3 月の時点でも 3 例とも生存）。

ペンシルベニア大学で現在症例集積を行っている遺伝子治療としては、2009 年 2 月から IFN-alpha を組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が開始された。2011 年 2 月の時点で 9 例の登録があり重篤な副作用は発生しておらず、2 例で Partial response、4 例で Stable disease を得ている（Dr. Albelda, personal communication）。また、2010 年 4 月からは同じく IFN-alpha を用いた遺伝子治療に抗がん剤を組み合わせる治療の臨床試験が開始されている。

米国以外の状況としては、オーストラリアで遺伝子治療が行われた。西オーストラリア大学の Robinson らはインターロイキン-2 を組み込んだワクシニアウイルスベクターを、12 週間にわたって腫瘍内に直接投与する遺伝子治療を行った（ $1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ plaque-forming units）。2000 年に発表された論文によると、特に重篤な副作用は出現しなかった。治療効果としては臨床的、画像的效果は認められなかった。

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、別紙記載のマスターウイルスバンクを用いた。これらのバンクは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。 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「3×10^{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。本臨床研究で用いられるREIC/Dkk-3遺伝子発現アデノウイルスベクターは、(株)桃太郎源社が製造委託した、米国のペイラー医科大学で作製され、「3×10^{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。 3) 体内の標的細胞以外の細胞への遺伝子導入の可能性（前立腺の場合） 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（1.0×10^{10} 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。 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。 本研究はREIC/Dkk-3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REIC/Dkk-3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が予測される。 4) 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性 REIC/Dkk-3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。詳細な取り扱い規定等に関しては別途第一種使用規定の国への申請を行う予定である。 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。 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 型を含む群では発がん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持ち、げっ歯類におけるがん化に関与しているとされる E1 領域を REIC/Dkk-3 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、がん原性はないと考えられる。
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	培養悪性胸膜中皮腫細胞ならびに実験動物を用いた遺伝子治療基礎実験において、REIC/Dkk-3 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、今回用いる予定である REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、桃太郎源株式会社が製造委託した、米国ペイラー医科大学で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。 岡山大学ではすでに前立腺がん・肺がんに対する遺伝子治療臨床研究が所定の審査を通過して（肺がん：非小細胞肺がんに対する正常型 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、前立腺がん：前立腺がんに対する 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、前立腺がんに対する 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）、既に研究が実施されている。また前立腺がんに対する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究についてはすでに所定の審査を経て実施承認（平成 23 年 1 月 6 日付け厚生労働大臣意見書発出）を得ている（平成 23 年 1 月 25 日第一例目実施）。平成 25 年 7 月の段階で 20 例の治療が実施され主要エンドポイントである Ad-REIC を用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。 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、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、病院側の受け入れ態勢は整備されている。また、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、平成 15 年度からは岡山大学病院内に遺伝子・細胞治療センターが、平成 22 年からは、新医療研究開発センターが設置され稼動しており、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。また種々の先端的解析は REIC/Dkk-3 の開発研究を担当したナノバイオ標的医療イノベーションセンター：ICONTE（科学技術振興調整費：平成 18～平成 21 先端融合領域イノベーション創出拠点形成事業にて整備）において実施される体制が確立している。 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病院で実施することは、十分可能であると判断した。
実施計画	1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画 悪性胸膜中皮腫に対する、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。REIC/Dkk-3 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 REIC/Dkk-3 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、投与量を 1.0×10^{11} vp から開始し約 3 倍ずつ増量し、3.0×10^{12} vp に至る 4 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、安全・効果評価・適応判定部会における検討結果に従い、症例数を追加して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 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。 2. 治療実施

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、岡山大学病院にて患者（必要な場合は患者及び代諾者^{注）}）に対し、文書による説明（第1回目）を行い、文書による同意が得られた場合に限り本臨床研究に患者登録し、治療前検査を開始する。

^{注）} 代諾者とは被験者の配偶者、後見人、その他これらに準じる者（成人の子、親、成人の兄弟姉妹など）をさす。

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。同部会において本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者（必要な場合は患者及び代諾者）に対し、文書による説明（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（悪性胸膜中皮腫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。同意書は2部作成し、署名又は記名捺印された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。

文書によ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) 投与当日、岡山大学病院北病棟5階新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室に-80℃で凍結保管してある REIC/Dkk-3 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同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。
- 2) REIC/Dkk-3 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、保冷下で岡山大学病院中央放射線部 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。
- 4) 岡山大学病院中央放射線部 CT 室にて、原則として局所麻酔を施行し、CT ガイド下に、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を、胸水貯留を認める胸腔中、または評価可能な1病変部に注入する。ウイルスベクター液の注入量は胸水中（胸腔）へは 50ml、病変部には 1-2ml とする。胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち注入する。

注入後の岡山大学病院中央放射線部 CT 室内の消毒、清掃は専門業者（医療関連サービスマーク認定）に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。投与から4週後に臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。

3. 安全性および有効性の評価

以下に示すタイムスケジュールにて安全性および有効性の評価に関する検査を行う。

細胞性・体液性免疫反応に関する解析については、先行する前立腺がん遺伝子治療臨床研究の結果を反映し解析項目・スケジュールを最終的に確定する予定である。

4. 本臨床研究による治療終了（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病院において投与後60ヶ月まで追跡調査をする。

安全性の評価及び効果の判定に関する検査項目並びにタイムスケジュール

項目	登録時	投与前	投与初日	7日後	2週後	3週後	4週後	治療終了後 (4週後)	1年後
理学所見	○	毎日				○	○		○
Vital Signs	○	○	毎日				○	○	○
PS	○	○	毎日				○	○	○
血液・生化学検査 (血液、尿、胸水)	○	○	2日毎		○	○	○		○
心電図	○			○			○		○
胸部X線	○						○	○	○
胸部CT	○	○		○	○		○	○	○
PET-CT	○						○		○
アデノウイルス中和抗体 (血液、胸水)		○	2日毎		○		○		○
アデノウイルスベクター の測定		○	2日毎		○	○	○		○
バイオマーカー		○					○		
細胞性・体液性免疫反応		○			○	○	○		
腫瘍におけるREC/Dkk-3 発現の確認 (可能な場合)							△		

5. 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) 病理学的に悪性胸膜中皮腫であることが確認されている患者（組織型は問わない）
 - 2) 悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことのある患者。治療レジメンは問わない。
- 最終投与日から症例登録申請まで 3 週間以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと
- 3) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法に対して過敏症等があり、化学療法による治療を受けることが出来ない患者
 - 4) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法あるいは手術による治療を拒否する患者
 - 5) 症例登録申請時点で根治目的の手術の適応とならない患者
 - 6) 画像診断により同定可能な腫瘍性病変を有している患者
 - 7) 同意取得時点の年齢が 20 歳以上 75 歳未満の患者
 - 8) Performance Status (ECOG PS score を用いる) : 0~1 の患者
 - 9) 症例登録申請前に放射線療法が施行されている場合は、造血能を有する骨の 25% 以内の照射であり、放射線療法終了日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、かつ当該治療の効果や有害事象の影響を持ち越していないこと
 - 10) 悪性胸膜中皮腫に対する根治手術以外の外科療法が施行された場合は、手術日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと。但し、検査のための開胸や開腹などは、手術の影響がなく安全性の確保など被験者の本試験への参加に問題がないと研究担当医師が判断した場合は、手術日から症例登録申請まで 7 日以上経過していれば登録可能とする。
 - 11) 主要臓器の機能が保持されている患者で、治療開始時の臨床検査が以下の基準を満たす症例（登録前 14 日以内のデータとする。登録日を day1 とし、2 週前の同一曜日は可とする）
 - ・ヘモグロビン量 : 9.0g/dL 以上
 - ・白血球数 : 3,000/mm³ 以上もしくは 好中球数 : 2,000/mm³ 以上
 - ・血小板数 : 10 万/mm³ 以上
 - ・AST (GOT) 及び ALT (GPT) : 各実施医療機関の基準値上限の 2.5 倍以下
 - ・総ビリルビン : 各実施医療機関の基準値上限の 1.5 倍以下
 - ・血清クレアチニン : 1.5mg/dL 未満
 - ・大気吸入下での SpO₂ (又は PaO₂) : 92% 以上 (PaO₂ : 60mmHg 以上)

	・心電図：正常（異常所見が認められた場合については、研究担当医師が被験者の安全性に問題ないと判断した場合は登録可能とする） 12) 症例登録日から少なくとも12週以上の生存が期待できる患者 13) 本人から文書による同意が得られている患者 6. 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) 重度又はコントロールが困難な全身疾患の合併を有する患者 2) 活動性感染症を有する患者 3) 活動性の重複がんを有する患者 4) 有症状の脳転移がある患者又は治療を必要とする脳転移がある患者 5) 胸部単純X線にて、明らかな間質性肺炎、肺線維症を有する患者 6) 胸膜肺全摘手術施行後に再発した悪性胸膜中皮腫患者 7) CT上、治療を必要とする心嚢水を有する患者 8) Adenovirus に対する血中中和抗体価が1:1000を超える患者 9) 同意取得前の4週以内に未承認薬又は治験薬を投与された患者 10) 妊婦、授乳中又は妊娠している可能性のある女性、又は避妊する意思のない患者 11) 生殖能力を有する男性又は女性の場合、同意取得日から本剤の最終投与後90日間、医学的に容認されている避妊法を使用できない患者 12) その他、研究担当医師が本試験の対象として不適当と判断した患者 7. 被験者の同意の取得方法 悪性胸膜中皮腫に関し、その病態、現在適用可能な治療法が限定されること、本臨床研究の理論的背景、動物実験の成績、安全性に関する成績について、患者本人（必要に応じて患者本人及び代諾者）に説明し、十分な理解を得た上で、自由な意思で本臨床研究の被験者となることについて文書による同意を得る。同意の取得は、患者登録時、及び全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応可能と判定した後の計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（必要に応じて被験者及び代諾者）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。 8. 実施期間および目標症例数 本臨床研究の実施期間は了承が得られた時点から2年間とする。目標症例数は原則として、15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24例とする。
備 考	被験者の同意取得について：被験者は本臨床研究について、文書に基づいて説明を受け、その内容と期待される治療効果及び危険性を十分に理解し、自主的に同意をした上で、同意書に署名するものとする。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。 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。

遺伝子治療臨床研究実施計画書

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

岡山大学病院

目 次

1. 遺伝子治療臨床研究の名称	4
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	4
2-1. 総括責任者の氏名及び担当する役割	4
2-2. 総括責任者以外の研究者氏名及び担当する役割	4
3. 遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地	5
4. 遺伝子治療臨床研究の目的	5
5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	6
5-1. 研究区分	6
5-2. 対象疾患に対する現時点での知見	6
5-2-1. 悪性胸膜中皮腫に対する現時点での一般的な知見	6
5-2-2. 悪性胸膜中皮腫に対する新しい治療法として注目されている、 REIC/Dkk-3 遺伝子治療	6
5-3. 本遺伝子治療臨床研究の概要	8
5-3-1. REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製	8
5-3-2. 対象疾患の選定	8
5-3-3. 被験者の選択基準	8
5-3-4. 除外基準	9
5-3-5. 遺伝子導入法	10
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	11
5-4-1. 従来行われてきた他の治療法との比較	11
5-4-2. 遺伝子治療を選択した理由	11
6. 遺伝子の種類及びその導入方法	12
6-1. REIC/Dkk-3 遺伝子の構造と性質	12
6-1-1. REIC/Dkk-3 遺伝子の構造	12
6-1-2. REIC/Dkk-3 遺伝子の性質及び作用メカニズム	12
6-2. 当該細胞を標的細胞とした理由	13
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本導入法を 選択した理由	13
6-3-1. 遺伝子導入方法の理論的根拠	13
6-3-2. 遺伝子導入方法の概略	14
6-3-3. REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製方法と構造	14
6-3-4. 本遺伝子治療臨床研究に関する研究成果	14
6-3-4-1. 悪性胸膜中皮腫での基礎的研究	14
6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析	17
6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究	18
6-3-4-4. Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の同等性を検証する為の実験	23

6-3-4-5. Ad-CMV-REIC 製剤の胸腔内投与の安全性に関する実験	27
7. 安全性についての評価	28
7-1. 遺伝子導入剤の安全性	28
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	28
7-1-2. 増殖性ウイルス出現の可能性	28
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	29
7-1-4. 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性	29
7-1-5. 染色体内へ遺伝子が組み込まれる場合の問題点	29
7-1-6. がん原性の有無	30
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	30
7-2. REIC/Dkk-3 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	30
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	30
9. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	31
9-1. 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	31
9-2. 被験者の選択基準及び除外基準	32
9-2-1. 選択基準	32
9-2-2. 除外基準	33
9-3. 被験者の同意の取得方法	34
9-4. 実施期間及び目標症例数	34
9-5. 遺伝子治療臨床研究の実施方法（治療計画）	34
9-5-1. 対象群及び治療群の設定	34
9-5-2. 遺伝子導入方法と導入回数	35
9-5-3. 前処置及び併用療法の有無	35
9-5-4. 臨床検査項目及び観察項目	36
9-5-5. 予測される副作用及びその対処方法	40
10. 本遺伝子治療臨床研究における個人情報保護への対処	42
10-1. 個人情報の定義について	42
10-2. 研究を行う機関の長の最終的な責務	43
10-3. 診療・教育機関としての岡山大学病院における個人情報の一般的な取り扱い	43
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	44
10-5. 利用目的による制限	44
10-6. 適正な取得と取得に際しての利用目的の通知等	44
10-7. 内容の正確性確保	45
10-8. 安全管理措置	45
10-9. 委託者等の監督	45
10-10. 第三者提供の制限	45
10-11. 保有する個人情報に関する事項の公表等	45
10-12. 個人情報の開示	45

10-13. 個人情報の訂正及び利用停止等	46
10-14. 理由の説明	46
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	46
10-16. 苦情の対応	46
11. その他必要な事項	46
11-1. 研究者の略歴及び研究業績	46
11-2. 実施施設の施設設備の状況	78
11-3. 本遺伝子治療研究に関連する国内外の研究状況	78
11-3-1. REIC/Dkk-3 遺伝子治療に関して	78
11-3-2. 悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療について	79
11-4. REIC/Dkk-3 アデノウイルスベクターの供給、保管及び品質管理	82
11-5. 引用文献のリスト	82
添付書類 1.	
12. その他の必要な事項	
12-1. 悪性胸膜中皮腫治療臨床研究のための説明文書と同意書	
12-2. 安全性の評価及び効果の判定に関する検査項目並びにタイムスケジュール	
12-3. REIC/Dkk-3 遺伝子及びアデノウイルスベクターの構造	
12-4. REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製方法	
12-5. 有害事象の評価指標	
12-6. 岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に関する資料	
12-6-1. 岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会規程	
12-6-2. 岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 安全・効果評価・適応判定部会 要項	
12-6-3. 岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会名簿	
12-6-4. 第1回岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会議事録	
12-6-5. 第2回岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会議事録	
12-6-6. 第3回岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会議事録	
12-7. 国立大学法人岡山大学及び岡山大学病院の保有する個人情報の適切な管理に関する資料	
12-7-1. 岡山大学病院の保有する個人情報の適切な管理に関する規程	
12-7-2. 国立大学法人岡山大学の保有する個人情報の適切な管理に関する規程	
12-7-3. 国立大学法人岡山大学の情報公開に関する規程	
12-8. アデノウイルスベクターの供給、品質管理	
添付書類 2.	
13. 引用文献の写し	

1. 遺伝子治療臨床研究の名称

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

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

豊岡伸一 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学 教授
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
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

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

宗 淳一 岡山大学病院 呼吸器外科 助教
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、
臨床観察、臨床効果判定

山根正修 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
医学教育リノベーションセンター 准教授
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、
ベクターの投与、臨床観察、基礎的効果判定

大藤剛宏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科学准教授
患者への説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察

三好新一郎 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科学教授
患者の選定、臨床観察、臨床効果判定

堀田勝幸 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 助教
患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター投与、
臨床効果判定

田端雅弘 岡山大学病院 腫瘍センター 准教授
患者の選定、臨床効果判定、臨床観察

木浦勝行 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 教授
患者の選定、臨床観察、基礎的効果判定、臨床効果判定、

谷本光音 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学 教授
患者の選定、臨床観察、臨床効果判定

平木隆夫 岡山大学病院 放射線科 講師
ベクター投与、画像効果判定

郷原英夫 岡山大学病院 放射線科 講師
ベクター投与、画像効果判定

金澤 右 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医学科 教授
ベクター投与、画像効果判定

渡部昌実 岡山大学病院 新医療研究開発センター 准教授

ベクターの調製、ベクターの管理、基礎的効果判定

那須保友 岡山大学病院 新医療研究開発センター 教授

総括責任者の補佐、研究全体の総合的支援、関係省庁との調整

研究協力者

公文裕巳 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科泌尿器病態学・教授

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(研究全般)

大槻剛巳 川崎医科大学衛生学・教授

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(免疫学的事項)

岡部和倫 国立病院機構山口宇部医療センター・外科系診療部長、呼吸器外科医長

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

岸本卓巳 独立行政法人労働者健康福祉機構岡山労災病院・副院長

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

中野孝司 兵庫医科大学呼吸器内科・教授

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

樋野興夫 順天堂大学医学部病理・腫瘍学・教授

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

Steven Albelda University of Pennsylvania Medical Center,

Pulmonary, Allergy & Critical Care Division, Professor of Medicine

研究の円滑な遂行のための包括的アドバイス(臨床的事項)

米国における関連情報の提供

塩見 均 桃太郎源株式会社 代表取締役社長

アデノウイルスベクターの供与

3. 遺伝子治療臨床研究の実施施設の名称及びその所在地

名称：岡山大学病院

所在地：〒700-8558 岡山市北区鹿田町 2-5-1

(TEL) 086-235-7507 (総務課) 086-235-7265 (呼吸器外科)

(FAX) 086-232-1534 (総務課) 086-235-7269 (呼吸器外科)

4. 遺伝子治療臨床研究の目的

本研究は、悪性胸膜中皮腫に対し Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3

(以下、REIC/Dkk-3) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で投与した場合、

1 安全性(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)

2 治療効果の観察(評価可能症例)を行い、治療効果を総合的に判定する

(副次エンドポイント)

3 当該遺伝子治療における有効性をきたす可能性のある免疫学的反応を解析すると

ともに治療効果の病理学的評価を行う

(副次エンドポイント)

悪性胸膜中皮腫症例に対して、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で胸水または局所病巣内に直接投与する。

その際の質的、量的安全性を確認し、治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や腫瘍マーカーの低下を期待する際の根拠となる、組織学的(外科的切除後の病理学的な評価も含む)、分子生物学的効果、ベクターの感染、mRNA レベル及びたんぱく質レベルでの REIC/Dkk-3 遺伝子の発現について総合的に解析することを目的とした第 I / II a 相試験とする。

本臨床研究は岡山大学前立腺がん遺伝子治療臨床研究プロトコルを参考に、悪性胸膜中皮腫臨床プロトコル検討委員会を含む研究協力者と岡山大学の研究者間で実施される共同研究であり、製造販売承認を目的とした治験ではない。

本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは桃太郎源株式会社より供給される。

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. 悪性胸膜中皮腫に対する現時点での一般的な知見

悪性胸膜中皮腫は、アスベストへの曝露を原因として発症するとされ、実際にアスベストを吸入してから悪性胸膜中皮腫を発症するまで 20 年から 40 年の潜伏期間があると言われているが¹⁾、米国では早期のアスベスト規制の結果、すでに 2004 年をピークに悪性胸膜中皮腫の患者数、死亡数とも減少傾向に向かっている (Bruce W.S. Robinson ら 2005 年)²⁾。

一方、規制の遅れた日本では、悪性胸膜中皮腫の患者は、1980 年代前半には年間 100 人程度であったが、95 年に 500 人、2004 年には 953 人となっている。1960 年代以降のアスベストの輸入量増加や広範な利用状況を考慮すれば、2025 年にピークに達し、今後 40 年間の死亡者は 10 万 3000 人に達すると推計されている。

さらに、欧州における患者数のピークは 2015 年から 20 年で、今後の 40 年間の死亡者は 25 万人とされ、経済成長の著しい中国やインドにおいては、アスベストの使用は未だに禁止されておらず、早晚、大量の患者が発生すると考えられている。

このように、世界的に増加が推定される悪性胸膜中皮腫患者に対する治療薬のニーズは高まると予測されるが、現時点で悪性胸膜中皮腫に対する治療薬としては顕著に有効な薬剤はない。米国で 2004 年に、日本で 2007 年に承認されたペトレキセド(商品名:アリムタ)においても、シスプラチンとの併用で延命効果があることが示されているものの、臨床試験に参加した症例では 1 年生存期間中央値 12.1 カ月、1 年生存率 50.3%と限定的なもので³⁾、新しい薬剤の開発が強く望まれている。

5-2-2. 悪性胸膜中皮腫に対する新しい治療法として注目されている REIC/Dkk-3 遺伝子

治療

新規がん治療遺伝子 REIC/Dickkopf-3 は、2000 年に、岡山大学での細胞の不死化の研究の過程において、ヒト正常線維芽細胞の不死化に伴って発現が減弱する遺伝子として同定された遺伝子⁴⁾で、細胞のアポトーシスを司る遺伝子と考えられている。後に、アフリカツメガエルの頭部形成に関わる Dkk (dickkopf) 遺伝子ファミリーの Dkk-3 と相同であることが明らかになった。

REIC/Dkk-3 遺伝子は正常細胞では発現しているが、種々のがん細胞(肺非小細胞がん、腎がん、前立腺がん、精巣がん、胸膜悪性中皮腫)で発現が低下しており^{5~7)}、これらのがん細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、対照とした正常細胞には傷害を与えず、がん細胞選択的に小胞体ストレスによるアポトーシスが誘導された^{6,7)}。前立腺がんでは、研究協力者・分担者である公文・那須らのグループにおける検討で、マウス前立腺がん同所移植モデルを用いた前臨床試験において、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター(以下、Ad-REIC)の局所投与により、①局所前立腺腫瘍の発育抑制、②肺及びリンパ節転移の抑制という全身効果、③生存期間の延長効果が確認され、原発巣のみならず転移病巣の治療も目的とした REIC/Dkk-3 遺伝子の局所投与の有用性が明らかにされた^{8,9)}。すなわち、局所への遺伝子導入(*in situ* gene therapy)により、局所での腫瘍退縮とともに、全身への治療効果を期待するという臨床研究立案のための科学的根拠が明らかにされている。選択的細胞死による直接的な抗腫瘍効果のみならず、REIC 遺伝子により産生される分泌型 REIC タンパクは、樹状細胞様細胞の分化誘導能を有している。このことは、Ad-REIC による局所遺伝子治療は、腫瘍局所において選択的細胞死の結果生じる‘がん細胞膜断片(がん抗原)’の樹状細胞様細胞への取込みによる特異的な細胞傷害性T細胞を誘導するという、自己がんワクチン化のための最適環境を構築する治療法として位置づけることができる。さらに、Ad-REIC の局所腫瘍内投与は、腫瘍組織内間質細胞などからの Interleukin-7 (IL-7) の産生による NK 細胞の活性化も同時に惹起されることから、これらの相乗的な抗がん免疫の賦活化作用の結果として、局所がん病巣のみならず遠隔転移病巣への顕著な治療効果が存在することが動物実験において実証されている。(6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究 に詳細を記載)

これらの基礎研究を踏まえ、Ad-REIC を用いた前立腺がんを対象とした臨床研究が、現在、岡山大学病院において実施されている(平成23年1月25日に、第1例目の症例に Ad-REIC を投与した)具体的には、[A 群: 内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん]及び[B 群: ハイリスク初発限局性前立腺がん]を対象とし、投与量のレベルを4段階(dose level 1: 1×10^{10} vp, level 2: 1×10^{11} vp, level 3: 1×10^{12} vp, level 4: 3×10^{12} vp)に設定し、前立腺がんに対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療臨床研究を実施している。安全性の検討(最大耐量の推定)を主要エンドポイントとし、治療効果の観察を副次的エンドポイントとする臨床研究である。結果として、平成23年度までに、A 群 5 例、B 群 12 例に投与した。これにより、実施した Vector dose level 1, level 2 ($1 \times 10^{10} \sim 1 \times 10^{12}$ vp)では、安全性がおおむね確認され、一部の症例では有効性を示唆する所見が得られた。高用量ベクター(1×10^{12} vp)投与群で、約 70%の症例に発熱(Grade-1)が観察された。平成 24 年度には、新たに A 群 1 例(dose level 3)、B 群 2 例(いずれも dose level 4)に投与した。この 3 症例において発熱(Grade-2)が観察されたが一過性のものであり、重篤な転機をたどる症例は皆無であった。また、これら 3 症例中 2 症例で、PSA の低下等の臨床的有効性を示唆する所見が得られ、現在、解析を行っている。結論として、前立腺がん症例:A 群及び B 群において、平成23年1月25日～平成25

年7月現在までに計 20 症例で治療が実施をされ、主要エンドポイントである Ad-REIC を用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。

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

さらに、安全性という観点においても種々の検討が実施されている。Ad-REIC による各種正常細胞に対する細胞毒性について解析を行ったが明らかな細胞毒性は認められていない。(6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析) また投与におけるヒトでの安全性をさらに確認、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが^{6)~10)}、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。また REIC は正常細胞において強く発現しており、Ad-REIC の局所投与にともなう全身的な随伴症状(副作用)はほとんどないものと考えられる。

以上のように、悪性胸膜中皮腫は現存の治療薬だけでは十分な有用性が得られていないこと、悪性胸膜中皮腫において REIC の発現が 90%以上の症例において抑制されていることさらに前臨床研究(*in vitro*, *in vivo*)における安全性、有効性に関する良好な結果より、悪性胸膜中皮腫に対する REIC/Dkk-3 遺伝子治療は効果が期待されと考え、アデノウイルスベクターにより REIC/Dkk-3 遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療臨床研究を計画した。

5-3. 本遺伝子治療臨床研究の概要

5-3-1. Ad-REIC(REIC/Dkk-3 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 Ad-REIC 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の原材料から、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、桃太郎源株式会社が製造委託した米国のペイラー医科大学で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。(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

本臨床研究では悪性胸膜中皮腫と診断され、選択基準に該当し、除外基準に抵触しない患者を対象とする。

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) 病理学的に悪性胸膜中皮腫であることが確認されている患者(組織型は問わない)
- 2) 悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことのある患者。治療レジメンは問わない。但し、薬剤の最終投与日から症例登録申請まで3週間以上が経過しており、投与された薬剤の有害事象の影響を持ち越していないこと。
- 3) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法に対して過敏症等があり、化学療法による治療を受けることができない患者
- 4) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法あるいは手術による治療を拒否する患者

- 5) 症例登録申請時点で根治目的の手術の適応とならない患者
- 6) 画像診断により同定可能な腫瘍性病変を有している患者
- 7) 同意取得時点の年齢が 20 歳以上 75 歳未満の患者
- 8) Performance Status (ECOG PS score を用いる) 0~1 の患者
- 9) 症例登録申請前に放射線療法が施行されている場合は、造血能を有する骨の 25% 以内の照射であり、放射線療法終了日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、かつ当該治療の効果や有害事象の影響を持ち越していないこと
- 10) 悪性胸膜中皮腫に対する根治手術以外の外科療法が施行された場合は、手術日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと。但し、検査のための開胸や開腹などは、手術の影響がなく安全性の確保など被験者の本試験への参加に問題がないと研究担当医師が判断した場合は、手術日から症例登録申請まで 7 日以上経過していれば登録可能とする。
- 11) 主要臓器の機能が保持されている患者で、治療開始時の臨床検査が以下の基準を満たす症例（登録前 14 日以内のデータとする。登録日を day1 とし、2 週前の同一曜日は可とする）
 - ・ヘモグロビン量: 9.0g/dL 以上
 - ・白血球数: 3,000/mm³ 以上、又は 好中球数: 2,000/mm³ 以上
 - ・血小板数: 10 万/mm³ 以上
 - ・AST (GOT) 及び ALT (GPT): 各実施医療機関の基準値上限の 2.5 倍以下
 - ・総ビリルビン: 各実施医療機関の基準値上限の 1.5 倍以下
 - ・血清クレアチニン: 1.5mg/dL 未満
 - ・大気吸入下での SpO₂ (又は PaO₂): 92% 以上 (PaO₂: 60mmHg 以上)
 - ・心電図: 正常 (異常所見が認められた場合においても、研究担当医師が被験者の安全性に問題ないと判断した場合は登録可能とする)
- 12) 症例登録日から少なくとも 12 週以上の生存が期待できる患者
- 13) 本人から文書による同意が得られている患者

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) 重度又はコントロールが困難な全身疾患の合併を有する患者
- 2) 活動性感染症を有する患者
- 3) 活動性の重複がんを有する患者
- 4) 有症状の脳転移がある患者又は治療を必要とする脳転移がある患者
- 5) 胸部単純 X 線にて、明らかな間質性肺炎、肺線維症を有する患者
- 6) 胸膜肺全摘手術施行後に再発した悪性胸膜中皮腫患者
- 7) CT 上、治療を必要とする心嚢水を有する患者
- 8) Adenovirus に対する血中中和抗体価が 1:1000 を超える患者
- 9) 同意取得前の 4 週以内に未承認薬又は治験薬を投与された患者
- 10) 妊婦、授乳中又は妊娠している可能性のある女性、もしくは避妊する意思のない

患者

- 11) 生殖能力を有する男性又は女性の場合、同意取得日から本剤の最終投与後 90 日間、医学的に容認されている避妊法を使用できない患者
- 12) その他、研究担当医師が本試験の対象として不適当と判断した患者

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、岡山大学病院にて患者(必要な場合は患者及び代諾者^{注)})に対し、文書による説明(第 1 回目)を行い、文書による同意が得られた場合に限り本臨床研究に患者登録し、治療前検査を開始する。

^{注)}代諾者とは被験者の親権を行う者、配偶者、後見人、その他これらに準じる者(成人の子、親、成人の兄弟姉妹など)をさす。

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。同部会において本臨床研究の適応と判断された場合、岡山大学病院にて患者(必要な場合は患者及び代諾者)に対し、文書による説明(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(悪性胸膜中皮腫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。同意書は 2 部作成し、署名又は記名捺印された 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。

文書によ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) 投与当日、岡山大学病院中央診療棟 5 階新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室に -80℃ で凍結保管してある REIC/Dkk-3 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同施設内安全キャビネット内へ移動、溶液を融解する。
- 2) REIC/Dkk-3 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、保冷下で岡山大学病院総合診療棟 IVR-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。
- 4) 岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室にて、原則として局所麻酔を施行し、CT ガイド下に、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター液を、胸水貯留を認める胸腔中、または評価可能な 1 病変部に注入する。ウイルスベクター液の注入量は胸水中(胸腔)へは 50ml、病変部には 1-2ml とする。胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち注入する。

注入後の岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室内の消毒、清掃は専門業者(医療関連サービスマーク認定)に依頼する。その後、プロトコルを遵守して安全性並びに治療効果の評価を行う。投与から 4 週後に臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。

ベクター液の注入量は、ベクター力価漸増式に 4 段階とし、ステージアップの適応評価については、それぞれのステージの投与 4 週以降に安全・効果評価・適応判定部会を開催し、全ての症例について投与 4 週間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並びに参加委員全員の署名又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。委員長は、規定にのっとり審査又は調査を行い終了後速やかにその結果を岡山大学病院長に報告する。岡山大学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く)

- 1) 添付資料 12-4 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・尿一般検査、生化学一般検査、血中ベクターゲノム数測定、血中アデノウイルスに対する抗体及び中和抗体の産生など)を行う。
- 2) Ad-REIC 注入後の導入遺伝子の発現の解析については、あらかじめ被験者の同意が得られ、担当医師が医学的に可能と判断した被験者のみを対象とし、ベクター注入終了4週後以降に胸水採取、生検による投与部位の組織生検を実施する。
- 3) 添付資料 12-4 に掲げるタイムスケジュールで効果判定に関する検査を行い、臨床症状の経過を観察する。
- 4) 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

悪性胸膜中皮腫に対する治療法として、外科療法、全身化学療法、放射線療法、温熱化学療法及びその他の療法が試みられているが、ペメトレキセドとシスプラチンの併用療法以外に、標準的治療法はまだ確立されていない。また予後は極めて不良である。

5-4-2. 遺伝子治療を選択した理由

悪性胸膜中皮腫は、胸膜表面の中皮やその下の結合組織の未分化な間葉細胞に由来する腫瘍で、生存期間中央値は臨床病期Ⅰ～Ⅱ期の患者で16ヶ月程度、Ⅲ～Ⅳ期では5ヶ月程と極めて予後不良な疾患である。その治療法は、外科手術療法、放射線療法の適用は限定され、現在、抗がん剤において承認されている標準治療は、ペメトレキセドとシスプラチンの併用療法のみであり、悪性胸膜中皮腫に対して有効な治療法はまだ確立されていない。

このような状況下、これまでに、培養悪性中皮腫細胞並びに動物を用いた遺伝子治療の基礎実験において、REIC/Dkk-3 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が確認されたため¹⁰⁾、今回当該遺伝子治療を選択するに至った。悪性胸膜中皮腫は病態が進行しても比較的病変が限局していること、胸壁を通して比較的容易に病変部に到達することが可能であること、中皮腫細胞は表面積が広く、効果的、急速、かつ広範囲に遺伝子を導入することが可能であることから、遺伝子治療の対象として適切であると考えた。

適切な説明に基づく被験者の文書による同意が確保され、使用される遺伝子、その他被験者に投与される物質についてその品質、有効性及び安全性が確認され、さらに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って遺伝子治療が倫理的に許容されと考えられるが、前立腺がん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並びに低侵襲性については、岡山大学(前立腺内投与)、神戸大学(前立腺内投与、リンパ節及び骨などの転移巣への投与)、並びに北里大学(前立腺内投与:外科的切除の適応のあるハイリスク初発限局性前立腺がんを対象)における臨床研究で確認されており、わが国独自の研究成果の蓄積が存在する。

本臨床研究の対象疾患として、標準的な治療法が確立していない悪性胸膜中皮腫を選定し、アデノウイルスベクターにより REIC/Dkk-3 遺伝子を直接がん細胞に導入する遺伝子治療法を実施することは、他の治療法によっても予後が不良の疾患に対して、一つの治療法の可能性を検討する余地があると判断される。倫理的観点からも、この病態について早期に治療法を開発することが期待されている。

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って、より現実のものとなってきている。中でも、局所効果を期待するためには、できるだけ多くのがん細胞に遺伝子を導入することが重要で、高い導入効率を有するベクターが適しているといえる。力価が高く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は、種々の組織での高い遺伝子導入効率が認められており、前立腺がん、肺がんなどを対象にした遺伝子治療の基礎実験および臨床試験においても、その有用性が確認されており、^{11,12)}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¹³⁾。

このような背景から、本臨床研究では REIC/Dkk-3 遺伝子を組み込んだ REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いる。

6-1. REIC/Dkk-3 遺伝子の構造と性質

6-1-1. REIC/Dkk-3 遺伝子の構造

REIC/Dkk-3 遺伝子の構造及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 12-5 に記載する。

6-1-2. REIC/Dkk-3 遺伝子の性質及び作用メカニズム

REIC/Dkk-3 は、N 末端に 1 つのシグナルペプチドと、それぞれ 2 つずつのシステインドメインと coiled-coil ドメインとを有する 350 のアミノ酸より構成される分子量 38.3kDa の糖タンパク質で、Dkk ファミリーと呼ばれる分泌型蛋白群の一種である。Dkk ファミリータンパク質は Wnt 受容体を介して Wnt シグナル伝達を阻害することが知られている^{4,5)}。

REIC/Dkk-3 は腫瘍特異的細胞アポトーシスを誘導する機能を有していると考えられており、その機序として、c-Jun-N-terminal kinase (JNK) の活性化によって Bax のミトコンドリアへの移行を促進すると考えられている^{6,7)}。一連の研究において、種々のがん腫で(肺非小細胞がん、腎がん、前立腺がん、精巣がん)で REIC/Dkk-3 の発現が低下しており^{5~7)}、その機序として、REIC/Dkk-3 遺伝子プロモーターの過メチル化が指摘されている。これらの腫瘍細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させると、腫瘍細胞のアポトーシスが誘導された^{6,7,10)}。

一方、正常細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させてもアポトーシスが生ずることはほとんどなく、REIC/Dkk-3 には腫瘍特異的なアポトーシス誘導作用があると考えられた。具体的には、現

在までに検討されたヒト正常前立腺細胞として、PrEC(前立腺上皮細胞)と PrSC(前立腺間質細胞)が挙げられる。REIC/Dkk-3 遺伝子をコードする Ad-REIC を 10 MOI(multiplicity of infection)の濃度でこれら正常細胞に感染させ、36 時間後にアポトーシスの有無を観察したところ、アポトーシスの発生頻度は前立腺上皮細胞において 1.0%、前立腺間質細胞においては 0.5%であった⁶⁾。また、同様の実験をヒト正常乳腺細胞(HMEC)においても行ったが、この場合、濃度 100 MOI で 48 時間後に観察したところ、無処置群の細胞と比べ有意なアポトーシス誘導は認められなかった(無処置群:3.7 %、REIC/Dkk-3 発現群:5.5 %)。また、未発表データではあるが、ヒトの各種細胞における、Ad-REIC 投与 3 日後のアポトーシスを生じた割合は、がん細胞では 70%以上と高率であったが、正常細胞(肺上皮細胞、血管内皮細胞、腎近位尿管細胞)ではいずれも 5%未満であった。

これらの結果も含め、現時点においては、正常細胞に REIC/Dkk-3 遺伝子を過剰発現させてもアポトーシスが高率に誘導された例は確認されていない。これには、熱ショックタンパク(HSP)や小胞体ストレスが関与するとされており、その機序も徐々に解明されつつある¹⁴⁾。すなわち、本来がん細胞では REIC/Dkk-3 タンパク質発現が抑制されているため、REIC/Dkk-3 ががん細胞において強制発現され多量の REIC/Dkk-3 タンパク質が細胞内の小胞体において作られる場合、がん細胞においてより選択的に小胞体ストレスが発生すると考えられる。このことが、REIC/Dkk-3 タンパク質の強制発現による腫瘍特異的細胞アポトーシス誘導の一つの機序と考えられる。この小胞体ストレスによるシグナルにより、JNK が活性化され、それに依存してアポトーシスが誘導されることが明らかとなっている。また、JNK の活性化による細胞増殖シグナル経路の活性化の可能性も否定できないと考えられる。しかし、Ad-REIC を用いた REIC/Dkk-3 タンパク質の強制発現により、これまで調べ得た多くの種類のがん細胞においてアポトーシスが誘導され、逆に細胞増殖が活性化された細胞株は存在しない。このことを踏まえると、仮に JNK の活性化により細胞増殖シグナル経路が活性化されるにしても、小胞体ストレスによる大きな細胞死への流れには打ち勝つことができず、結果として細胞増殖が促進されることはないものと推察される。また、後述するように、REIC/Dkk-3 遺伝子治療において、分泌型 REIC タンパクによる樹状細胞の分化誘導作用や正常細胞での IL-7 の産生に基づく NK 細胞の活性化による相乗的抗がん免疫活性化作用が確認されている。

6-2. 当該細胞を標的細胞とした理由

本遺伝子治療では、悪性胸膜中皮腫細胞を標的細胞とし、REIC/Dkk-3 遺伝子を導入することで、腫瘍細胞特異的なアポトーシスの誘導を介する抗腫瘍効果が期待される。アデノウイルスベクターの悪性胸膜中皮腫細胞への遺伝子導入・発現効率並びに抗腫瘍効果に関しては in vitro 及び in vivo 実験結果から良好な成績が得られている¹⁰⁾。また、マウスを用いた治療実験では生存期間の有意な延長も確認されている。

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本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では、E1A ならびに E3 欠損型の非増殖性アデノウイルスベクターを用いる。E1A 欠損領域には REIC/Dkk-3 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 細胞もしくは PerC6 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効率良く侵入してウイルスゲノムは核内へと注入される。しかし一方で、E1A 遺伝子が欠損しているため、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 REIC/Dkk-3 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、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ない。

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が一過性であり、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、および宿主ゲノム内への組み込みに伴う insertional mutagenesis の可能性は極めて低いと考えられる。

さらに、極めて高い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. REIC/Dkk-3 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 REIC/Dkk-3 ウイルスベクターは、桃太郎源株式会社の製造委託を受けた米国のベイラー医科大学で、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の原材料から、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生産されている。

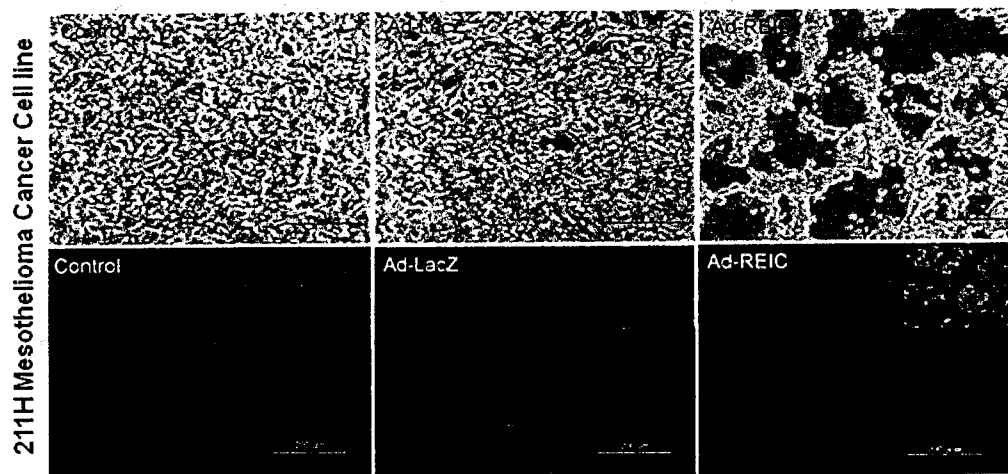
添付資料 12-3 に REIC/Dkk-3 遺伝子並びにアデノウイルスベクターの構造を、添付資料 12-4 に REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの作製方法を記載する。

6-3-4. 本遺伝子治療臨床研究に関する研究成果

本申請研究は「悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究」であり、本研究に関する研究成果を以下に示す。悪性中皮腫に加えて前立腺がんについても関連する成果を示した。

6-3-4-1. 悪性胸膜中皮腫での基礎的研究

REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Ad-REIC) を悪性中皮腫 211H 細胞に 100 MOI で感染させ、in vitro で、がん細胞死の誘導能を評価した。その結果、Ad-REIC 添加群において、有意にアポトーシスが誘導されることが証明されている。(図1)



(図-1) 211H細胞におけるAd-REIC添加48時間後のアポトーシス誘導能の評価

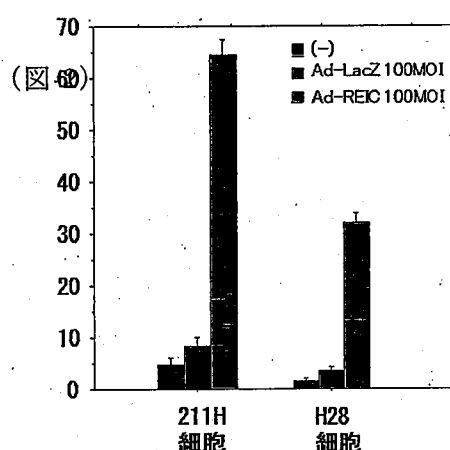
Ad-REICを悪性中皮腫211H細胞及びH28細胞に感染させ、細胞を直接ヘキスト染色することによって、がん細胞死の誘導能を評価した。すなわち、ウイルス感染72時間後の細胞をヘキスト染色することにより死細胞を観察し、死細胞の全細胞に対する割合を調べた。その結果、いずれの悪性中皮腫細胞においても、コントロール群であるAd-LacZ群と比べ、Ad-REICの100 MOI添加群において、アポトーシスが非常に高い割合で誘導されている。(図-2)

さらに、Ad-REICの悪性中皮腫治療での有用性を検証するために、悪性中皮腫211Hルシフェラーゼ発現細胞(1×10^7 cells/ 100μ l/each animal)を胸腔に移植したBALB/cヌードマウス悪性中皮腫同所性モデルを作製し、がん細胞注入の1週間後、Ad-REIC [1×10^{10} PFU (plaque forming unit)]の胸腔内投与がどのような抗腫瘍効果を示すかを解析した。Control群としては、生理食塩水(100μ l)、Ad-LacZ (1×10^{10} PFU)を同様に投与したマウスを用いて、治療後、定期的にin vivoイメージング装置 (IVIS® Spectrum)を用いてルシフェラーゼによる発光を写真撮影により確認した。

その結果、コントロール群では経過とともに胸腔内腫瘍が増大し、Ad-LacZ群では16日目に2匹のマウスが死亡した。一方、Ad-REIC治療群では、著明な抗腫瘍効果が認められ高い割合で腫瘍のイメージングシグナルが消失した。(図-3)

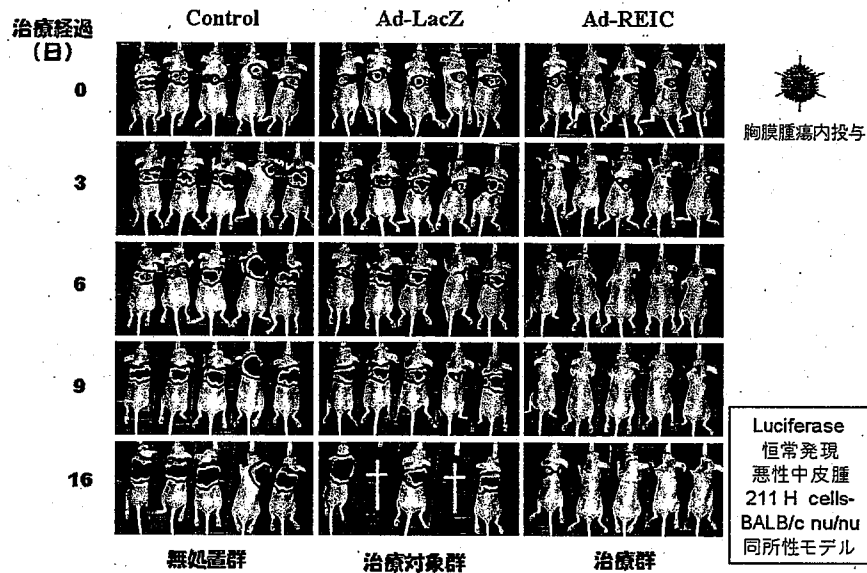
ヒトの悪性中皮腫細胞において、
添加3日後のアポトーシスを起こした細胞の割合(%)

平均値 ± 標準誤差
で表示 (n = 5)



(図-3)

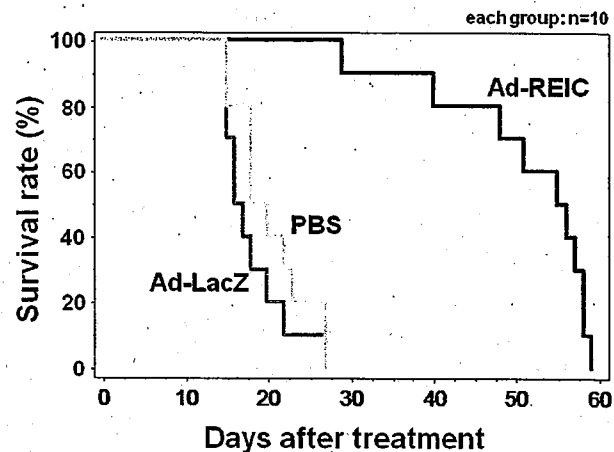
悪性中皮腫同所性モデルにおけるAd-REIC(単回投与)の治療効果



また、Ad-REIC 治療群において生存期間の
有意な延長が確認された。(図-4)

(図-4)

それぞれの投与群(マウス)の生存率(%)

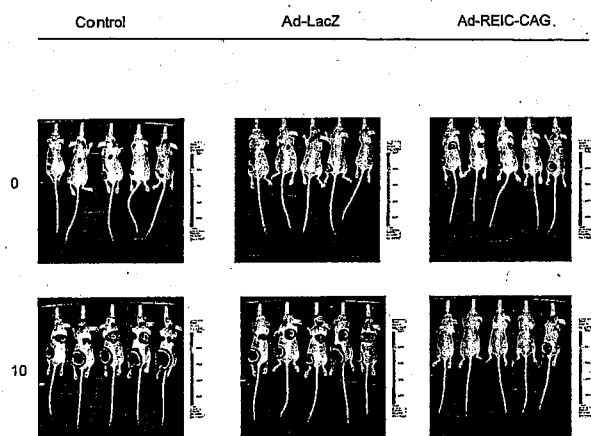


一方、REIC/Dkk-3 遺伝子治療の直接的、並びに全身的抗腫瘍効果を検討するため、悪性胸膜中皮腫同所一皮下移植モデルを用いて実験を行った。

悪性中皮腫 211H ルシフェラーゼ発現細胞(1×10^7 cells/ 100μ l/each animal)を胸腔(右側)ならびに皮下(左側)にそれぞれ移植した。がん細胞注入の翌日、Ad-REIC [1×10^9 vp]の胸腔内投与した。Control 群としては、生理食塩水(100μ l)、Ad-LacZ (1×10^{10} PFU)を同様に投与したマウスを用いて、治療後、定期的に in vivo イメージング装置 (IVIS® Spectrum)を用いてルシフェラーゼによる発光を写真撮影により確認した。

その結果、コントロール群では経過とともに胸腔内腫瘍ならびに皮下腫瘍が増大した。一方、Ad-REIC 治療群では、胸腔内腫瘍ならびに皮下腫瘍に対する著明な抗腫瘍効果が認められ高い割合で腫瘍のイメージングシグナルが消失した。(図-5: 未発表データ)

(図-5)



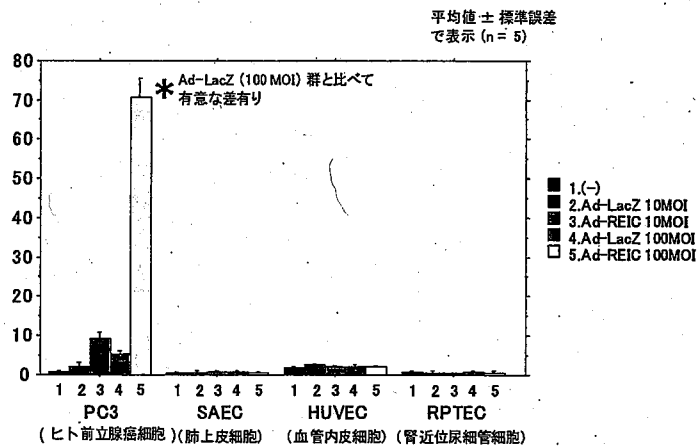
以上のように、悪性中皮腫同所性マウスモデルにおいて、Ad-REIC が悪性中皮腫の治療に極めて有効であることが明らかになった。

6-3-4-2. 各種正常細胞における細胞毒性の解析

ヒト正常細胞における、REIC の安全性を示す実験として、ヒト正常細胞由来の様々な初代培養細胞株(SAEC:肺上皮細胞、HUVEC:血管内皮細胞、RPTEC:腎近位尿細管細胞)をヒトの正常細胞として用いた実験を、2009年6月に、岡山大学医学部泌尿器科学教室において行った。(未発表)

被検対象のポジティブコントロールとしては、ヒトの前立腺がん由来で、Ad-REIC 投与時にアポトーシスが誘導されることが明らかとなっている PC3 細胞を、導入遺伝子のネガティブコントロールとしては、アポトーシスを誘導しないことが明らかとなっている LacZ 遺伝子をコードした Ad-LacZ を用いた。被検対象の細胞を6ウェルのプレートに 5×10^5 万個 cell/well 播種、翌日、Ad-LacZ 及び Ad-REIC を 10 あるいは 100 MOI/well を添加した。3 日後に死細胞の全細胞に占める割合をヘキスト染色下に測定した。PC3 細胞では、Ad-REIC を 100 MOI 投与したウェルにおいて平均で 70% を越える割合でアポトーシスが誘導され、Ad-LacZ を 100 MOI 投与したウェルと比べて極めて高い割合でアポトーシスが誘導されていた(分散分析法による検定で $p < 0.0001$ 。観察 n 数は各群 5)。一方、3 つの正常細胞株(SAEC 細胞、HUVEC 細胞、RPTEC 細胞)においては、遺伝子未投与群、Ad-LacZ 群、Ad-REIC 群、いずれの群においてもアポトーシス誘導細胞の頻度は 5% 未満であり、投与なし群と Ad-REIC 群の間に有意な差を認めなかった(分散分析法による検定で $p > 0.05$)。(図-5)

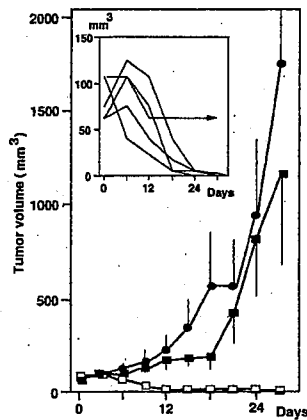
(図-6) ヒトの各種細胞における、投与3日後のアポトーシスを起こした細胞の割合 (%)



6-3-4-3. 前立腺がんでの基礎的研究

PC3 ヒト前立腺がん細胞株を用いた *in vitro* 試験において、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを細胞当たり 0.1 ~ 20 MOI 投与し、36 時間後の培養液中に分泌される REIC/Dkk-3 タンパク量を Western blotting 法 (BioSource 社) にて検出した。その結果、最小量のベクター投与で十分な REIC/Dkk-3 タンパク質の分泌を認めた。また、各種ヒト前立腺がん細胞株 (PC3, DU145, LNCaP) 及び正常細胞株 (OUMS-24、前立腺間質細胞、前立腺上皮細胞) に REIC/Dkk-3 遺伝子をアデノウイルスベクターを用いて導入し、遺伝子導入 36 時間後に TUNEL 染色にて細胞のアポトーシスを検討した。その結果、前立腺がん細胞株では 24 ~ 49% にアポトーシスが認められたが、正常細胞で観察されたアポトーシス細胞の頻度は、OUMS-24 1.5%、前立腺間質細胞 0.5%、前立腺上皮細胞 1.0% であった⁶⁾。

マウス前立腺がん移植モデルを用いた *in vivo* 試験⁶⁾ においては、まず、 2.5×10^6 個の PC3 ヒト前立腺がん細胞株を BALB/C ノードマウス (8 週齢) の背部皮下へ注入した。1 週間後、腫瘍径が 5mm 程度 (腫瘍容積が $30 \sim 100 \text{ mm}^3$) となったところで、 2.5×10^8 PFU のヒト REIC/Dkk-3 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。ベクター注入後 30 日間、腫瘍体積を測定したところ、コントロール群では腫瘍の増大が見られたが、REIC/Dkk-3 遺伝子治療群では 5 例中 4 例で腫瘍は完全に消失し、残りの 1 例についても、腫瘍は縮小、観察期間を通じて増大しなかった (図-7)。

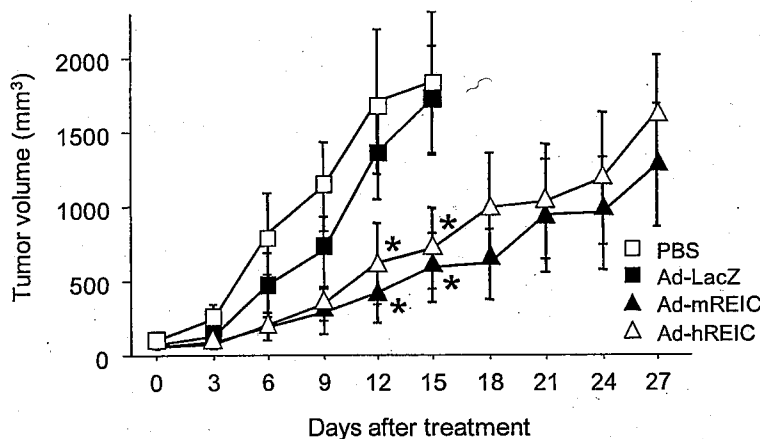


(図-7) Effect of Ad-REIC on the growth of PC3 in nude mice. Mean volume of tumors estimated from the diameters in five nude mice in each group.

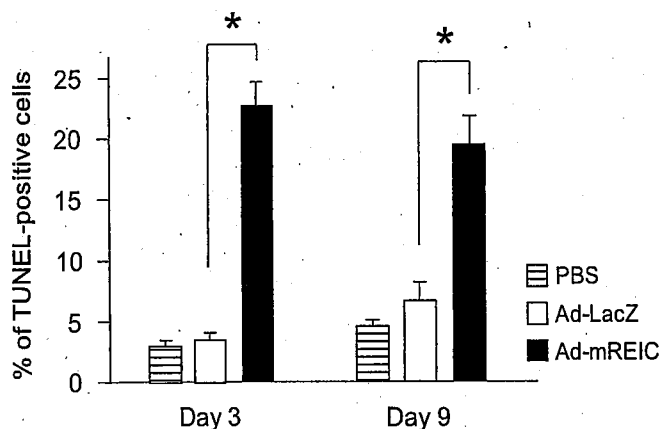
●PBS, ■Ad-LacZ, □Ad-REIC

続いて、前立腺がん同所移植モデルについて、 5×10^3 個の RM-9 マウス前立腺がん細胞株を C57Bl/6 マウス(12 週齢、オス)の前立腺部に同所移植した。⁸⁾1 週後、腫瘍径が 5mm 程度(腫瘍体積が 30~100mm³)となったところで、 1.2×10^8 PFU のマウス もしくはヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍内に注入し、経直腸超音波装置にて腫瘍の観察、及び腫瘍体積の測定を行った。その結果、REIC/Dkk-3 遺伝子治療群では、腫瘍の増大は有意に抑制された。(図-8)

また、ベクター投与後の腫瘍組織を TUNEL 染色すると、REIC/Dkk-3 遺伝子治療群ではアポトーシスに陥った腫瘍細胞がコントロール群に比べて有意に多く見られた。(図-8)

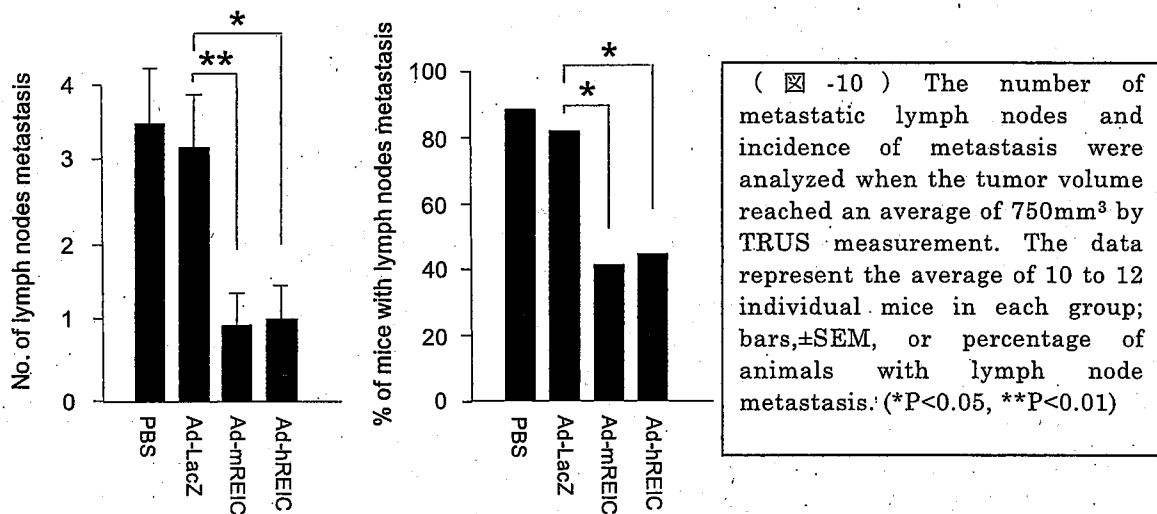


(図-8) Orthotopic RM-9 tumors were formed and injected intratumorally with Ad-mREIC, Ad-hREIC, Ad-LacZ, or PBS on treatment day 0. Tumor size was measured by TRUS and data represent the average of 5 individual mice in each group; bars, $\pm$ SEM. A significant difference was observed(* $p < 0.05$) between the Ad-REIC and Ad-LacZ treatments.

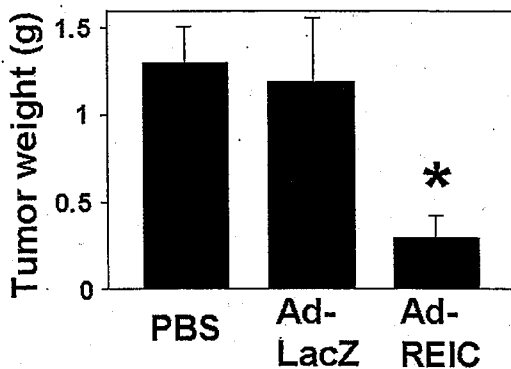


(図-9) Quantitative analyses of the TUNEL-positive cells were done using the data from the TUNEL staining of the RM-9 tumors on days 3 and 9 after the treatments. The data represent the average of 5 individual mice in each group; bars, $\pm$ SEM. There was a significant difference(* $p < 0.01$) between the Ad-mREIC and Ad-LacZ treatments.

さらに、腫瘍体積が 750mm^3 となったところで、後腹膜リンパ節を摘出し、リンパ節転移の有無を検討した。REIC/Dkk-3 遺伝子治療群ではコントロール群に比べ、リンパ節転移の頻度は有意に低値を示した(図-10)。これらの結果より、REIC/Dkk-3 遺伝子治療は局所効果のみならず、転移抑制効果も有していることが明らかになった。すなわち、術前療法として用いられた場合に、手術療法の根治率を上昇させることが示唆された。

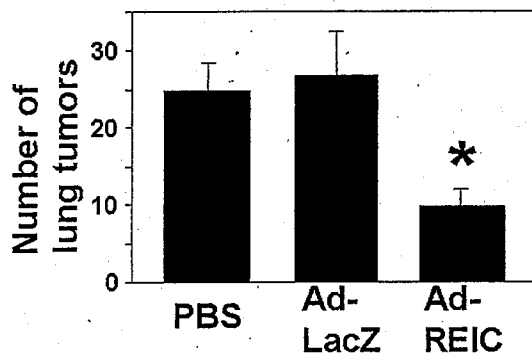


一方、REIC/Dkk-3 遺伝子治療の直接的、並びに免疫学的抗腫瘍効果を検討するため、前立腺がん同所-肺移植モデルを用いて実験を行った⁹⁾。RM-9 マウス前立腺がん細胞株 5×10^3 個を C57Bl/6 マウスの前立腺部に同所移植し、その後 5×10^4 個の RM-9 細胞を尾静脈から注入し、1 週後、 2.25×10^8 PFU のヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現ベクターを前立腺部腫瘍内に注入し、さらに 2 週後にすべてのマウスを屠殺して、前立腺部腫瘍の重量、肺転移腫瘍の数、脾臓細胞による in vitro での抗 RM-9 細胞傷害能について解析したところ、REIC/Dkk-3 遺伝子治療群では、前立腺部腫瘍の重量及び肺転移腫瘍の数のいずれにおいても有意な抗腫瘍効果が認められた(図-11, 12)。



(図-11)

The tumor weight of the orthotopic RM9 tumors is shown on day 14 after the treatment. Five mice were analyzed for each group. *: A significant difference between the Ad-REIC and Ad-LacZ treatment.

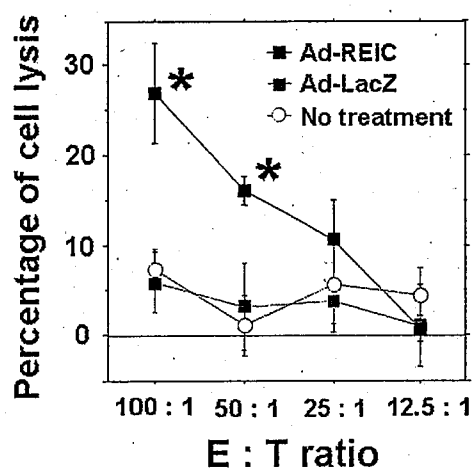


(図-12)

The number of RM9 lung tumors is shown on day 14 after the treatment. Five mice were analyzed for each group. *: A significant difference between the Ad-REIC and Ad-LacZ treatment.

臓

RM-9 細胞傷害能が観察された(図-13)。

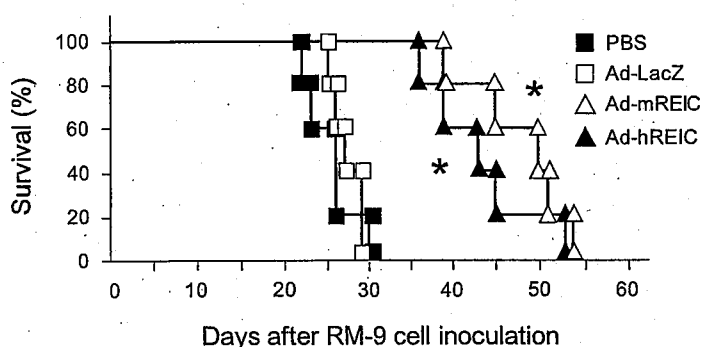


(図-13)

An *in vitro* RM9-cytolytic assay was performed using the splenocytes from each treated mouse. In the indicated effector/target (E : T) ratio, the percentage of the lysed cells was calculated. *: A significant difference between the Ad-REIC and Ad-LacZ treatment. Four mice were analyzed in each group.

以上より、REIC/Dkk-3 遺伝子治療の直接的並びに免疫学的抗腫瘍効果が示唆された。またそれらのメカニズムとして、REIC/Dkk-3 遺伝子の過剰発現による IL-7 の発現¹⁵⁾、REIC/Dkk-3 タンパク質による、未成熟な免疫担当細胞の樹状様細胞への分化誘導⁹⁾が考えられている。

上記と同じマウス前立腺がん同所移植モデルにて生存実験を行い、治療群において有意な生存期間の延長を認めた(図-14)。



(図-14) Long-term survival of RM-9 tumor-bearing mice after intratumoral Ad-REIC delivery. Kaplan-Meier curve is shown in the Ad-mREIC, Ad-hREIC, Ad-LacZ and PBS-treated groups, with each group consisting of 5 mice. There was a significant difference ($p < 0.005$) between the Ad-REIC and Ad-LacZ treatments.

さらに、マウス REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与後の安全性を検討するため、

マウス前立腺がん皮下移植モデルを用いて、 5×10^{10} vp (viral particle) 量のヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを腫瘍内投与し、ベクター投与 32 日後に屠殺した。一方、対照として、通常のマウスに 5×10^{10} vp. 量のマウス REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを皮下投与し、ベクター投与後 21 日後に屠殺し、それぞれのマウスの体重変化、肝機能を含む血液生化学検査、病理組織学的検査(脳、肺、心臓、肝臓、胃、脾臓、腎臓、膀胱、直腸)を行った。

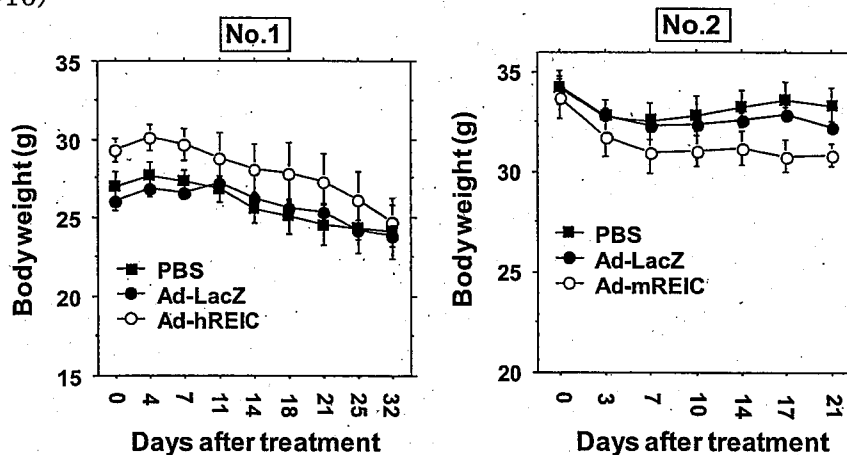
その結果、マウス前立腺がん皮下移植群と対照群との間で、体重変化に有意差を認めず、代表的な肝機能指標の ALT (alanine aminotransferase)、AST (aspartate aminotransferase) は正常値内に保たれており、他のパラメーター (LDH, bilirubin, total protein, albumin) における変化も認められなかった。さらに、病理組織学的検討でも、細胞浸潤などの、異常な病理組織学的所見は認めなかった。(図-15, 16, 表 1: 未発表データ)

(図-15)

Experiment	Mouse	Treatment group	Dose (viral particle)	Injection site	Time frame (Days)
No.1 PC3, subcutaneous tumor	BALB/C-nu/nu	PBS Ad-LacZ Ad-hREIC	5×10^{10}	Intra-tumor	PC3 vector -14 0 harvest 32
No.2 (No tumor)	C57BL/6	PBS Ad-LacZ Ad-mREIC	5×10^{10}	Intra-prostate	vector 0 harvest 21

(図-16)

A



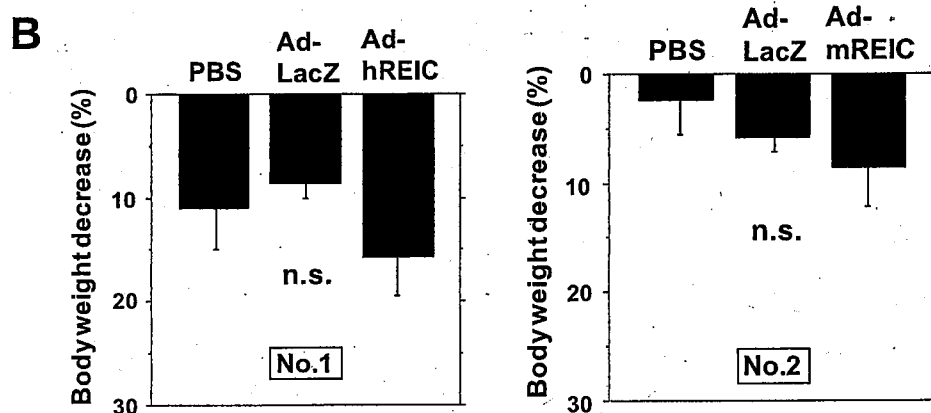


表1

Treatment	WBC (10^3 cells/ μ l)	Hemoglobin (g/dl)	Hematocrit (%)	Platelets (10^4 / μ l)	Alb (g/dl)	ALT (IU/l)	AST (IU/l)	ALP (IU/l)	Total Bilirubin (mg/dl)
No.1									
PBS	53.0 $\pm$ 11.1	11.6 $\pm$ 1.5	43.5 $\pm$ 4.7	66.7 $\pm$ 21.6	2.2 $\pm$ 0.11	36.0 $\pm$ 1.9	100.2 $\pm$ 9.9	107.6 $\pm$ 4.2	0.04 $\pm$ 0.01
Ad-LacZ	71.0 $\pm$ 5.8	10.2 $\pm$ 0.5	38.7 $\pm$ 1.8	98.3 $\pm$ 9.0	2.1 $\pm$ 0.10	36.6 $\pm$ 1.4	102.8 $\pm$ 13.1	76.6 $\pm$ 7.4	0.03 $\pm$ 0.00
Ad-hREIC	53.0 $\pm$ 5.1	10.2 $\pm$ 0.3	37.7 $\pm$ 1.0	87.6 $\pm$ 10.9	2.0 $\pm$ 0.08	42.4 $\pm$ 7.3	85.6 $\pm$ 12.5	94.2 $\pm$ 8.8	0.02 $\pm$ 0.01
No.2									
PBS	50.5 $\pm$ 7.4	9.6 $\pm$ 0.2	35.4 $\pm$ 0.7	75.6 $\pm$ 16.6	2.2 $\pm$ 0.05	44.8 $\pm$ 26.5	52.8 $\pm$ 18.9	124.8 $\pm$ 2.9	0.03 $\pm$ 0.00
Ad-LacZ	67.0 $\pm$ 6.7	9.6 $\pm$ 0.5	35.6 $\pm$ 1.6	60.8 $\pm$ 9.9	2.1 $\pm$ 0.08	26.5 $\pm$ 8.9	41.3 $\pm$ 7.4	136.3 $\pm$ 7.6	0.04 $\pm$ 0.01
Ad-mREIC	69.5 $\pm$ 9.6	9.6 $\pm$ 0.9	35.7 $\pm$ 3.0	73.9 $\pm$ 14.8	1.9 $\pm$ 0.05	42.3 $\pm$ 19.0	47.5 $\pm$ 11.2	125.3 $\pm$ 2.9	0.03 $\pm$ 0.00

6-3-4-4. Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の同等性を検証する為の実験

本申請遺伝子治療臨床研究において悪性胸膜中皮腫症例に対して投与する REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、CMV プロモーターを搭載した Ad-CMV-REIC 製剤である(添付資料 12-3、12-4 に詳細を記載)。現在、岡山大学病院で実施されている前立腺がんに対する Ad-REIC による臨床研究において用いられているのは CAG プロモーターを搭載した Ad-CAG-REIC 製剤であるため、Ad-REIC の安全性・効能がプロモーター(CMV プロモーターか CAG プロモーターか)によって差が無い(同等である)ことを証明する為の以下のような実験を行った。その結果を、(図-17)、(図-18)、(図-19)に示した。結論として、Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤は、その効能についておおむね同等であることが証明された。

当初、悪性胸膜中皮腫症例に対しても前立腺がんと同じく CAG プロモーターを搭載した Ad-CAG-REIC 製剤を使用することで遺伝子治療臨床研究審査委員会の実施承認を得ていたが、ベクター供給ライセンスに関する理由により使用する製剤を変更する必要が生じた。そのため遺伝子治療臨床研究審査委員会を開催し、その経緯と Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の同等性を検証する為の実験結果等が審議され改めて承認された。審議の詳細については添付書類 12-6-6 第3回遺伝子治療臨床研究審査会議事録に記載した。

(図-17)

In vitro での、Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の比較実験 ①

REIC タンパク質発現を Western blotting 法で解析。

・使用ロット

Ad-CMV-REIC (Baylor 医科大学作製の GMP ロット)

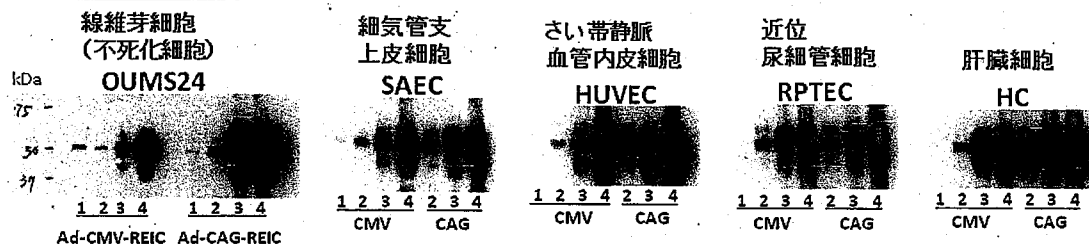
Ad-CAG-REIC (SAFC 社製の GMP ロット)

それぞれのベクター添加後、24 時間後に細胞を回収し解析。

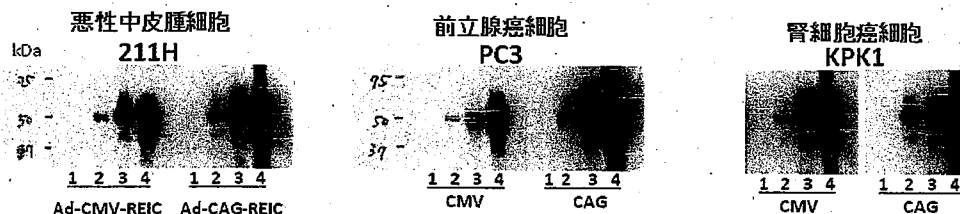
各レーンでの
ベクター添加量

1. (-)
2. 10MOI
3. 100MOI
4. 500MOI

ヒト由来 正常細胞



ヒト由来 癌細胞



結果として、正常及び癌の各細胞において Ad-CMV-REIC を添加することにより、Ad-CAG-REIC と同様に、REIC タンパク質の強発現が認められた。

(図-18)

In vitro での、Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の比較実験 ②

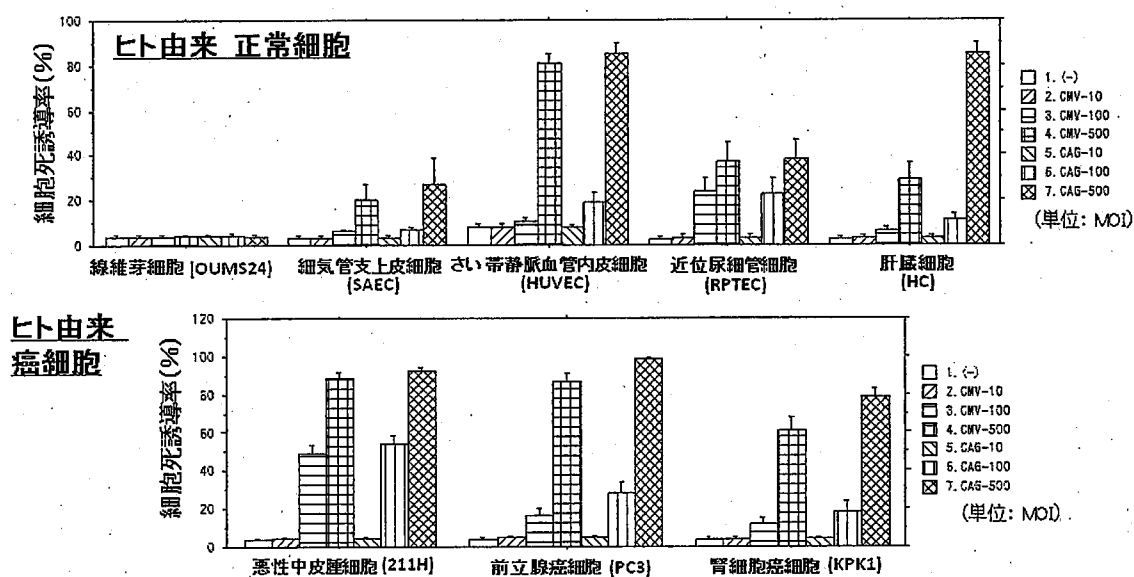
細胞死誘導率をそれぞれの細胞で解析。

・使用ロット

Ad-CMV-REIC (Baylor 医科大学作製の GMP ロット)

Ad-CAG-REIC (SAFC 社製の GMP ロット)

それぞれのベクター添加後、72 時間後に顕微鏡下に解析。



結果として、正常及び癌の各細胞において Ad-CMV-REIC を添加することにより、Ad-CAG-REIC と同様に、用量依存性の細胞死誘導が認められた。

(図-19)

In vivo での、Ad-CMV-REIC 製剤と Ad-CAG-REIC 製剤の比較実験

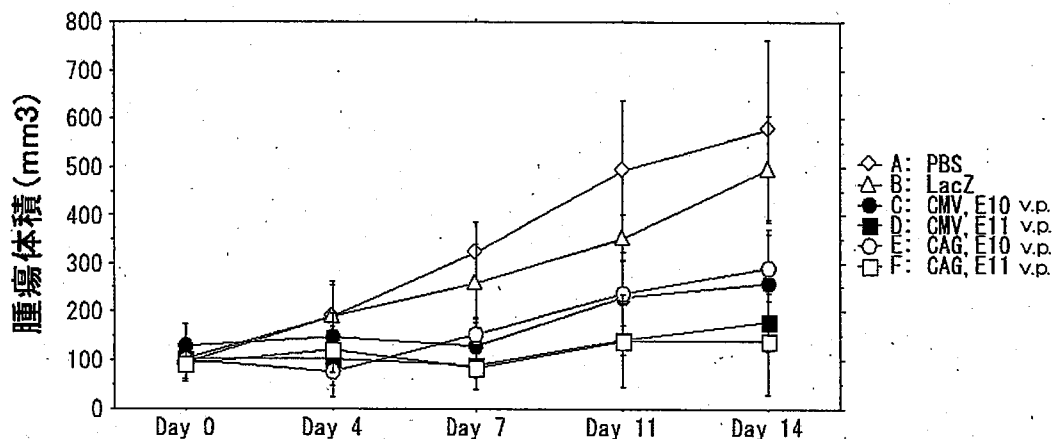
それぞれの Ad-REIC による抗腫瘍効果を、ヒト 211H 悪性中皮腫細胞を用いた皮下腫瘍マウスモデルで解析。

- ・使用マウス: スードマウス、6 週齢、雄、30 匹、6 群
- ・使用ロット: Ad-CMV-REIC (Baylor 医科大学作製の GMP ロット) および Ad-CAG-REIC (SAFC 社製の GMP ロット)

悪性中皮腫 211H 細胞 250 万個/PBS100 μ l/匹で、マウス右大腿に皮下注射し、腫瘍が 5-8mm 程となった所で、以下の用量で腫瘍内に局所注入した。

- A 群 PBS 100 μ l
- B 群 Ad-CAG-LacZ 1X10E11 viral particles/100 μ l
- C 群 Ad-CMV-REIC 1X10E10 viral particles/100 μ l
- D 群 Ad-CMV-REIC 1X10E11 viral particles/100 μ l
- E 群 Ad-CAG-REIC 1X10E10 viral particles/100 μ l
- F 群 Ad-CAG-REIC 1X10E11 viral particles/100 μ l

投与後、各群において腫瘍径を経時的に測定、マウスの状態を毎日観察し、また Day 14 で、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、胃、脾臓、腎臓、大腸、膀胱、精巣を採取し、HE 染色で組織学的解析を実施した。



結果として、悪性中皮腫皮下腫瘍マウスモデルにおいて Ad-CMV-REIC を腫瘍内投与することにより、Ad-CAG-REIC と同様に、用量依存性の抗腫瘍効果が認められた。投与後、いずれのマウスにおいても明らかな行動異常等を認めず、また、各臓器の組織学的解析において、明らかな組織学的異常を認めなかった。

6-3-4-5. Ad-CMV-REIC 製剤の胸腔内投与の安全性に関する実験

本申請遺伝子治療臨床研究において悪性胸膜中皮腫症例に対して投与する Ad-CMV-REIC 製剤の、胸腔内投与の安全性に関する実験を行った。結果を以下の(図-20)に示す。

(図-20) Ad-CMV-REIC 製剤の胸腔内投与の安全性に関する実験

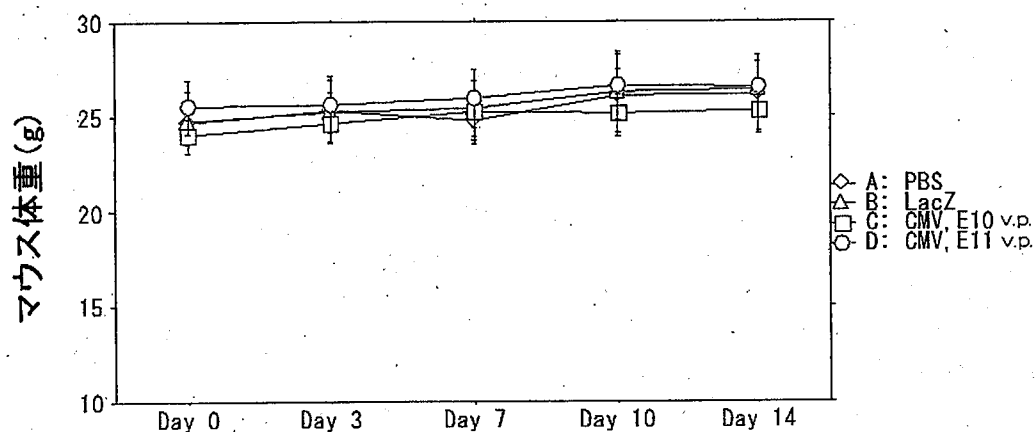
Ad-CMV-REIC をマウスの胸腔内に投与することの安全性を解析。

- ・使用マウス: C57/BL6、6 週齢、雄、20 匹、4 群
- ・使用ロット: Ad-CMV-REIC (Baylor 医科大学作製の GMP ロット)

以下の用量で、それぞれのマウスの右の胸腔内に局所注入した。

- A 群 PBS 100 μ l
- B 群 Ad-CAG-LacZ 1X10E11 viral particles/100 μ l
- C 群 Ad-CMV-REIC 1X10E10 viral particles/100 μ l
- D 群 Ad-CMV-REIC 1X10E11 viral particles/100 μ l

投与後、各群におけるマウス体重を経時的に測定、マウスの状態を毎日観察し、また Day 14 で、マウスの脳、肺、心臓、肝臓、胃、脾臓、腎臓、大腸、膀胱、精巣を採取し、HE 染色で組織学的解析を実施した。



結果として、Ad-CMV-REIC を胸腔内投与した場合のマウス体重の経時的推移は、コントロール群である PBS 及び Ad-LacZ 群と同様であった。投与後、いずれのマウスにおいても明らかな行動異常等を認めず、また、各臓器の組織学的解析において、明らかな組織学的異常を認めなかった。

7. 安全性についての評価

7-1. 遺伝子導入剤の安全性

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

本臨床研究に用いられる REIC/Dkk-3 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の原材料から、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、桃太郎源株式会社が製造委託した米国ペイラー医科大学で作製され、同社より直接岡山大学に供給される。

REIC/Dkk-3 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病院新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室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、ウイルス力価の測定、さらに REIC/Dkk-3 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 REIC 蛋白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、さらに、ベクター製造・分析技術の進歩等に伴って増殖性ウイルス(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 Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; ICH) Gene Therapy Discussion Group (ICH-GTDG) において、情報と意見の交換が行われ、見解、声明及び活動状況が 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る。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 が生じることは避けられず、FDA では RCA 量の許容限度として、「 3×10^{10} vp あたり 1 個未満」であることを推奨している。日本では、FDA の推奨値を参考にしながら、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。

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、「 3×10^{10} vp あたり 1 個未満」であるという条件を満たすことを目的に、前述したように桃太郎源社が米国のペイラー医科大学に委託して製造している。

また平成 16 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)によって取り纏められ、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 の体外への排泄も認められなかった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-GTDC 会議の見解(平成 16 年 6 月 10 日)日本語訳(国立医薬品食品衛生研究所遺伝子細胞医薬部 仮訳)より抜粋]

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

・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、ヒト前立腺への至適投与量 (1.0×10^{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、その拡散を解析する動物実験がベイラー医科大学で実施された。¹⁶⁾ 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、腸管への拡散が認められた。尿、精囊液、精子、肺への拡散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、血液においては低濃度注入群において 1 匹に認められ、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拡散は主に解剖学的に隣接する臓器に限定され、全身的な拡散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、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 (ヒト前立腺の容積は 30ml で、注入ベクター量は 1~2ml)、漏出の可能性は極めて低いと考えられる。本研究は REIC/Dkk-3 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 REIC/Dkk-3 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が予測される。

岡山大学医学部泌尿器科において実施された 2 つの臨床研究 (研究課題名: 前立腺がんに対する 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、並びに前立腺がんに対する 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臨床研究) において、治療直後から 7 日間において尿中並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 例において認められず、残る 1 例についても投与 90 分後まで存在したが、翌日には消失した。

7-1-4. 患者以外のヒトへの遺伝子導入の可能性

REIC/Dkk-3 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。被験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、尿中並びに血液の中にアデノウイルスベクターがないことを確認するまで被験者を個室管理とし、治療中はマスクや予防衣の着用など注意を払う。詳細な取り扱い規定等に関しては別途第一種使用規定の国への申請を行う予定である。

7-1-5. 染色体内に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、REIC/Dkk-3 によるタンパク質の発現は一過性で、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 型を含む群では発がん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、哺乳類の細胞を形質転換させる機能を持ち、げっ歯類においてがん化に関与しているとされる E1 領域を REIC/Dkk-3 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、がん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

平成 11 年 9 月に米国でアデノウイルスベクターを用いた OTC 欠損症に対する遺伝子治療で患者が死亡した。アデノウイルスベクターには急性毒性があり、dose と adverse event の間に直線性がなく、ある種の閾値を越えると強い adverse event が生じることが示されており、肝動脈からベクターを 3×10^{13} vp を接種された患者が死亡し、 3×10^{12} vp 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、米国ペイラー医科大学で行われた前立腺がんへのアデノウイルスベクター局所投与の臨床研究においては、1 例ではあるが 1×10^{11} PFU の投与量で肝機能障害が生じている¹⁷⁾。しかし、われわれの前立腺がんに対する遺伝子治療臨床研究の実績に基づく経験では、アデノウイルスベクターの局所投与において重篤な副作用は認められておらず、重篤な副作用の起こる可能性は極めて低いものと考えている。

7-2. REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター投与時のヒトでの安全性

REIC/Dkk-3 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、CT ガイド下になん病変部を直視しながらベクターを局所注入する手法、及び胸水貯留を認める胸腔中に注入する手法を用いており、導入された REIC/Dkk-3 遺伝子の過剰発現による腫瘍特異的アポトーシスを介して、一連の治療効果が誘導されることが期待される。REIC/Dkk-3 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、確保する目的で、種々の動物実験が実施されているが^{6)~10)}、動物実験レベルではいずれも有害事象は生じていない。

対象は前立腺がんであるが、すでに REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療が実施されており、平成 25 年 7 月現在までに計 20 症例 (A 群 6 例及び B 群 14 例) で治療が実施され、主要エンドポイントである Ad-REIC を用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。(5-2-2 本計画書 6 頁に記載)

したがって、これらの蓄積された情報より安全性に関して、重篤な副作用発現の可能性は低いと推測される。

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

岡山大学ではすでに前立腺がん・肺がんに対する遺伝子治療臨床研究が所定の審査を通過し、臨床研究を実施して一部は終了、一部は継続している。[肺がん: 非小細胞肺がんに対する正常

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; 前立腺がん: 前立腺がんに対する 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、前立腺がんに対する 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]

ベクターの取り扱い場所、臨床研究を実際に行う施設(病棟の隔離室、手術室、CT 室)がすでに整備され、それらの運用を含めて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。さらに、審査体制を含めた学内の体制も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病院内に遺伝子・細胞治療センター(現:新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室)が設置された。平成 22 年からは、新医療研究開発センターが設置され稼動しており、当該遺伝子治療臨床研究も平成 23 年 10 月から同センターの活動の一環として実施されている。また種々の先端的解析は REIC/Dkk-3 の開発研究を担当したナノバイオ標的医療イノベーションセンター: ICONT (科学技術振興調整費: H18~H21 先端融合領域イノベーション創出拠点形成事業にて整備)において実施される体制が確立している。

このような背景から、今回申請する遺伝子治療臨床研究を岡山大学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、岡山大学病院にて患者(必要に応じて患者及び代諾者)に対し、文書による説明(第1回目)を行い、文書による同意が得られた場合に限り、本臨床研究に被験者として登録し治療前検査を開始する。治療前検査において、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・適応判定部会において適応を評価する。

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、岡山大学病院にて患者(必要に応じて患者及び代諾者)に対し、文書による説明(第2回目)を行う。文書によ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。

REIC/Dkk-3 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 REIC/Dkk-3 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、投与量を 1.0×10^{11} vp から開始し約 3 倍ずつ増量し、 3.0×10^{12} vp に至る 4 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、安全・効果評価・適応判定部会における検討結果に従い、症例数を追加して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 a 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。

9-2. 被験者の選択基準及び除外基準

本臨床研究では悪性胸膜中皮腫と診断され、選択基準に該当し、除外基準に抵触しない患者を対象とする。

9-2-1. 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) 病理学的に悪性胸膜中皮腫であることが確認されている患者（組織型は問わない）
- 2) 悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことのある患者。治療レジメンは問わない。
最終投与日から症例登録申請まで 3 週間以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと
- 3) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法に対して過敏症等があり、化学療法による治療を受けることが出来ない患者
- 4) 悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法あるいは手術による治療を拒否する患者
- 5) 症例登録申請時点で根治目的の手術の適応とならない患者
- 6) 画像診断により同定可能な腫瘍性病変を有している患者
- 7) 同意取得時点の年齢が 20 歳以上 75 歳未満の患者
- 8) Performance Status (ECOG PS score を用いる) : 0~1 の患者
- 9) 症例登録申請前に放射線療法が施行されている場合は、造血能を有する骨の 25% 以内の照射であり、放射線療法終了日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、かつ当該治療の効果や有害事象の影響を持ち越していないこと
- 10) 悪性胸膜中皮腫に対する根治手術以外の外科療法が施行された場合は、手術日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこと。但し、検査のための開胸や開腹などは、手術の影響がなく安全性の確保など被験者の本試験への参加に問題がないと研究担当医師が判断した場合は、手術日から症例登録申請まで 7 日以上経過していれば登録可能とする。
- 11) 主要臓器の機能が保持されている患者で、治療開始時の臨床検査が以下の基準を満たす症例（登録前 14 日以内のデータとする。登録日を day1 とし、2 週前の同一曜日は可とする）
 - ・ヘモグロビン量 : 9.0g/dL 以上
 - ・白血球数 : 3,000/mm³ 以上もしくは 好中球数 : 2,000/mm³ 以上
 - ・血小板数 : 10 万/mm³ 以上
 - ・AST (GOT) 及び ALT (GPT) : 各実施医療機関の基準値上限の 2.5 倍以下
 - ・総ビリルビン : 各実施医療機関の基準値上限の 1.5 倍以下
 - ・血清クレアチニン : 1.5mg/dL 未満
 - ・大気吸入下での SpO₂ (又は PaO₂) : 92% 以上 (PaO₂ : 60mmHg 以上)
 - ・心電図 : 正常 (異常所見が認められた場合については、研究担当医師が被験者の安全性に問題ないと判断した場合は登録可能とする)

- 12) 症例登録日から少なくとも 12 週以上の生存が期待できる患者
- 13) 本人から文書による同意が得られている患者

設定の根拠

以下の理由により設定した。

- 1～5)：悪性胸膜中皮腫の内科的治療には、現在ペメトレキセド・シスプラチン併用療法以外の選択肢がない。また遠隔転移がなく、あきらかな胸壁浸潤がない場合、耐術能に問題がなければ外科切除の適応となる。本治療法が新規であることから、従来実施されている臨床試験と同様に、他の治療が奏効しない、あるいは適応外の患者が対象となる。したがって、悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことがある、あるいは化学療法や手術による治療を受けることが出来ない又は拒否する患者で、根治目的の手術の適応とならない患者が妥当と判断した。
- 6)：REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを局所投与し、治療効果を観察することを副次評価とする際に、病変を特定することが必要となるため、評価可能病変を有する患者が妥当と判断した。
- 7, 12)：20 歳以上で、本人から文書による同意が得られることを必須とした。
- 8～11)：悪性胸膜中皮腫は極めて予後が悪い疾患で、他の治療法が無効あるいは不可能な患者の予後はさらに悪く、本治療法の安全性を観察することも極めて難しいと思われる。したがって Performance Status が 0～1、放射線照射は造血能を有する骨の 25%以内とし、主要臓器の機能が保持されており、少なくとも 12 週以上の生存が期待できる患者とすることが妥当であると判断した。

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) 重度又はコントロールが困難な全身疾患の合併を有する患者
- 2) 活動性感染症を有する患者
- 3) 活動性の重複がんを有する患者
- 4) 有症状の脳転移がある患者又は治療を必要とする脳転移がある患者
- 5) 胸部単純 X 線にて、明らかな間質性肺炎、肺線維症を有する患者
- 6) 胸膜肺全摘手術施行後に再発した悪性胸膜中皮腫患者
- 7) CT 上、治療を必要とする心嚢水を有する患者
- 8) Adenovirus に対する血中中和抗体価が 1:1000 を超える患者
- 9) 同意取得前の 4 週以内に未承認薬又は治験薬を投与された患者
- 10) 妊婦、授乳中又は妊娠している可能性のある女性、又は避妊する意思のない患者
- 11) 生殖能力を有する男性又は女性の場合、同意取得日から本剤の最終投与後 90 日間、医学的に容認されている避妊法を使用できない患者
- 12) その他、研究担当医師が本試験の対象として不適当と判断した患者

設定の根拠

- 1～5)：安全性配慮のため設定した。
- 6～9)：安全性評価又は有効性評価に影響すると考えられるため設定した。
- 10～11)：次世代への影響について確認されていないため設定した。
- 12)：一般的な除外基準として設定した。

9-3. 被験者の同意の取得方法

悪性胸膜中皮腫に関し、その病態、現在適用可能な治療法が限定されること、本臨床研究の理論的背景、動物実験の成績、安全性に関する成績について、患者本人（必要に応じて患者本人及び代諾者）に説明し、十分な理解を得た上で、自由な意思で本臨床研究の被験者となることについて文書による同意を得る。同意の取得は、患者登録時、及び全身検索が終了し、安全・効果評価・適応判定部会が適応可能と判定した後の計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（必要に応じて被験者及び代諾者）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2年間とする。目標症例数は原則として、15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24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) REIC/Dkk-3 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REIC/Dkk-3 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、各群3レベルを以下に示すごとく設定する。

REIC/Dkk-3 アデノウイルスベクター	
レベル 1	1.0×10^{11} vp (viral particle)
レベル 2	3.0×10^{11} vp
レベル 3	1.0×10^{12} vp
レベル 4	3.0×10^{12} 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(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。レベルアップの適応評価については各レベル終了後に安全・効果評価・適応判定部会を開催することとし、当該レベルの最終症例

における投与 4 週以降に開催し、全ての症例について投与 4 週後までのデータを基に総合評価する。同部会で安全であると判定された後、次のレベルを開始する。

「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又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。規定に従い委員長は審査又は調査を行い、終了後速やかにその結果を岡山大学病院長に報告する。岡山大学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

岡山大学病院総合診療棟 IVR-CT 室にて局所麻酔を施行し、REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターの溶液を CT ガイド下に胸水貯留を認める胸腔内、あるいは評価可能な 1 病変部に注入する。ウイルスベクター溶液量は胸腔内注入の場合 50ml とし、腫瘍内へは 1-2 ml とする。なお、胸腔内注入の際は胸腔内にカテーテルチューブを挿入し、可能な限り胸水を排出したのち、50 ml のアデノウイルスベクター溶液を注入する。

なお、胸腔内チューブはウイルスベクター注入後の胸水増加の可能性を考え、最低 1 週間、留置することとする。

9-5-2-2. 遺伝子導入後評価

REIC/Dkk-3 アデノウイルスベクター溶液の注入後、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。治療を終了した 4 週後に、臨床症状、検査結果及び病変部の総合評価を安全・効果評価・適応判定部会において行う。

9-5-3. 前処置及び併用療法の有無

9-5-3-1. 悪性胸膜中皮腫の治療に関して

症例登録前に放射線療法が施行されていた場合は、放射線療法終了日から症例登録申請まで 21 日以上が経過し、かつ当該治療の効果や有害事象の影響を持ち越していないこととする。

悪性胸膜中皮腫に対する根治手術以外の外科療法が施行された場合は、手術日から症例登録申請まで 21 日以上が経過しており、その有害事象の影響を持ち越していないこととする。但し、検査のための開胸や開腹などは、手術の影響がなく安全性の確保など被験者の本試験への参加に問題がないと研究担当医師が判断した場合は、手術日から症例登録申請まで 7 日以上経過していれば登録可能とする。

9-5-3-2. アデノウイルスベクター注入に関して

胸水貯留を認める胸腔内、及び病変部に注入する際は、原則としてアトロピン硫酸塩注射液 1 A、ヒドロキシジン塩酸塩注射液、ペンタゾシン注射液筋肉内注射を前処置として行う。また、点滴のルートを確保しておく。局所麻酔下に実施し、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添付書類 12-2 に示した。

1) 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、心電図、SpO₂

(3) PS (performance status)：

ECOG スコア

(4) 血液・凝固系：

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

(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, γ -GTP

(6) 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

(7) 炎症マーカー：

CRP

(8) 血液電解質：

Na, K, Cl, Ca

(9) 胸部所見：

胸部 X 線（正、横）、胸部 CT、PET-CT

(10) アデノウイルス中和抗体

血液中、尿中アデノウイルスペクターの検出（PCR 法）、胸水

(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得られた症例全てにおいて病理解剖を行う。

2) 効果判定に関する検査

(1) 病変の変化：

胸部 CT 所見、PET-CT

(2) バイオマーカー：

Mesothelin, VEGF

(3) サイトカイン、免疫細胞活性：

IFN- γ 、TNF- α 、NK 細胞活性、Granulysin、IL-7 フローサイトメトリによる解

析等 (注)

注：

先行する前立腺癌に対する遺伝子治療臨床研究における解析項目・解析結果を反映し解析項目・スケジュールを最終的に確定する予定である。

(4) 投与部位における REIC/Dkk-3 の発現：

治療の影響が考えられる病変部組織の生検が可能な症例について、患者の同意が得られた場合施行

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、体重、体温、血圧、脈拍、SpO₂、胸部単純 X 線所見、心電図所見、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抗がん化学療法の内容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、ヘモグロビン量、白血球数、好中球数、血小板数、AST (GOT) 及び ALT (GPT)、総ビリルビン、血清クレアチニンを含む CBC、血液生化学検査、血液凝固検査及び尿検査などを記録する。
- 3) 治療開始以前に施行された全身化学療法あるいは放射線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) 治療開始前に病変の大きさ、病理組織学的診断及び臨床病期を胸部 CT を用いた画像診断所見及び生検により評価する。病理組織学的診断は AJCC/UICC TNM(7th edition) 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。また、胸腔内カテーテル留置例においては、胸水サンプルを採取し、血液サンプルに準じて、アデノウイルス中和抗体価を測定する。

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 12-2「安全性評価及び効果判定に関する検査項目並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、PS や SpO₂ を含む現症を記録する。
- 2) 胸部 CT 所見：気胸、胸腔内出血等の発現の早期発見などのため、定期的の実施し、安全性を確認する。
- 3) 被験者の CBC、血液凝固検査、電解質、血液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、胸水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定められた時期にチェックする。

9-5-4-3. 治療後評価

治療終了 4 週後に、臨床症状、検査及び病変部の総合評価を行う。また、可能な場合には、grade、病変範囲及び治療による細胞死の有無、腫瘍の消失を、初回生検組織と比較検討する目的で組織生検を行う。

- 1) 被験者の病状、PS、SpO₂を含む理学検査及び臨床検査
- 2) 胸部 CT による胸腔所見
- 3) 血清中、尿中、胸水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
- 4) バイオマーカー、サイトカイン及び免疫細胞活性の変動

投与部位の生検が可能な場合のみ、REIC/Dkk-3 発現の有無、組織中のがん細胞の有無、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。

なお、被験者が死亡した場合は剖検を依頼し、がん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。

なお、治療後 4 週時点の総合評価において Progressive Disease への悪化傾向を認めず、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、担当医師及び総括責任者は 4 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。

追加投与が認められた場合には、総合評価時から 4 週以降に投与することとする。

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病院において投与終了後 60 ヶ月まで追跡調査をする。

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出来事。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、本治療に際して生ずる、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、又は疾患のことであり、当該治療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 12-5「有害事象の評価指標」に基づいて grade 0～4 で評価する。この「副作用の評価指標」は、NCI (National Cancer Institute) の common toxicity criteria 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（又は確認日）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) 併用薬及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又は記名捺印を受けた出席リスト添付の議事録を作成し、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提出し、報告する。

関連性の4段階評価：

1：明確にあり

臨床研究薬の投与後、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、一定期間経過後に症状が消失した場合。

2：多分にあり

臨床研究薬の投与後、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）との関連性がおそらくないと考えられ、一定期間経過後に症状が消失した場合。

3：可能性を否定できない

臨床研究薬の投与後、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の投与後、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、胸腔穿刺に伴う胸痛、出血（血胸・咯血）、気胸、呼吸困難、肺表面損傷などがあるので、治療期間中は嚴重な症状観察を行い対処する。

1) 胸痛：胸腔穿刺によるもの

（対処法）消炎鎮痛剤、軽度な場合は経過観察

2) 血胸：胸腔穿刺によるもの

（対処法）止血剤、止血術、軽度な場合は経過観察

3) 気胸：胸腔穿刺によるもの

（対処法）ドレナージ、軽度な場合は経過観察

4) 呼吸困難：胸腔穿刺によるもの

（対処法）酸素、軽度な場合は経過観察

9-5-5-2. 比較的によく見られる軽い副作用への対処法

これまでの国内外の報告から、遺伝子治療一般に比較的によく見られる軽い副作用の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. 比較的強いと考えられる副作用への対処法

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 の投与、輸血

3) 重度アレルギー症状 (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・血栓溶解剤の投与など

9-5-5-4. 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^{注)}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

(i) 死亡

(ii) 死亡につながるおそれのある事象

(iii) 入院又は入院期間の延長が必要とされる事象

(iv) 永続的もしくは重大な機能障害・機能不全を呈した事象

(v) 先天異常・出生異常

(vi) その他医学的に重要な事象

「死亡」、「死亡につながるおそれ」又は「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又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。

2) 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、同一のものを診療記録に添付する。

3) 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・適応判定部会で判定される。委員会は結果報告書ならびに参加委員全員の署名又は記名捺印を受けた出席リスト添付の議事録を作成し、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。

9-5-5-5. 最大耐量の決定方法について

REIC/Dkk-3 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grade 3以上(血液系ではgrade 4)の副作用(添付資料12-5「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REIC/Dkk-3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grade 3以上(血液系ではgrade 4)の副作用が見られた時点で、その濃度より1段階低い、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》

Grade 3以上(血液系ではgrade 4)の副作用が見られた被験者数

次回 REIC/Dkk-3 投与量

0/3

3倍増量

1/3

さらに3人の被験者を評価

1/3 + 0/3

3倍増量

1/3 + 1/3

中止: 3分の1量=最大耐量

1/3 + 2/3

中止: 3分の1量=最大耐量

1/3 + 3/3

中止: 3分の1量=最大耐量

2/3

中止: 3分の1量=最大耐量

3/3

中止: 3分の1量=最大耐量

10. 本遺伝子治療臨床研究における個人情報保護への対処

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)及び「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って、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：岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学・教授
豊岡 伸一

10-3. 診療・教育機関としての岡山大学病院における個人情報の一般的な取り扱い

岡山大学病院は診療・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、患者の個人情報を使用する。この使用に関しては、個人情報保護の法律に基づいた国立大学法人岡山大学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 12-6)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う。

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
- ・被験者に関係する管理運営業務

(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) 岡山大学病院及び岡山大学での医療教育における利用

- ・医学・歯学・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、これを遵守する)

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
- ・審査支払機関又は保険者からの照会への回答
- ・関係法令等に基づく届出及び報告書
- ・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又は届出等
- ・医療上の安全に関わる行政機関又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、事前に被験者及び家族（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。これらについて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及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、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、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を保つよう努める。

10-8. 安全管理措置

組織的、人的、物理的、及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」及び「国立大学法人岡山大学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図られている。

しかし、一部の臨床検査データを外部検査業者に委託するため、岡山大学病院は、契約書及び機密保持契約書にて岡山大学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、岡山大学病院が求める個人情報の管理状況を確認する。

10-10. 第三者提供の制限

本臨床研究は、前述共同機関とデータを共有する可能性について、予め「悪性胸膜中皮腫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で通知する。

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、次に掲げる事項を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）に置く。

- 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り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、岡山大学病院が保有する個人情報について、被験者等から、当該被験者が識別される個人情報の開示（当該被験者が識別され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）を求められた時は、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. 個人情報の訂正及び利用停止等

被験者又は代諾者から、岡山大学病院が保有する、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、追加又は削除を求められた場合、総括責任者が調査し、その結果に基づいて総括責任者が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及び理解力について、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

前項 10-12、10-13 に関し、個人情報の開示、訂正、利用停止、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、又はその措置と異なる措置をとる旨を通知する場合等に関しては、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

苦情相談の窓口を以下のとおり設置する。

岡山大学病院 医事課患者支援係

岡山市北区鹿田町 2-5-1（〒700-8558）

電話：086-235-7205

11. その他必要な事項

11-1. 研究者の略歴及び研究業績

1) 豊岡伸一

職歴

平成 6 年 3 月	岡山大学医学部卒業
平成 6 年 4 月	岡山大学医学部第 2 外科入局、大学院医学研究科入学
平成 6 年 9 月	三豊総合病院 外科
平成 11 年 9 月	米国テキサス大学サウスウエスタンメディカルセンター ハマン癌センター ポストドクトラルフェロー
平成 13 年 3 月	岡山大学大学院医学研究科修了

平成 14 年 9 月	香川県立中央病院外科
平成 15 年 9 月	国立がんセンター東病院胸部外科
平成 16 年 5 月	岡山大学医学部附属病院呼吸器外科
平成 16 年 10 月	岡山大学医学部・歯学部附属病院呼吸器外科 助手
平成 19 年 4 月	岡山大学医学部・歯学部附属病院呼吸器外科 助教
平成 21 年 4 月	岡山大学病院呼吸器外科 助教
平成 23 年 4 月	岡山大学病院呼吸器外科 講師
平成 25 年 4 月	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・臨床遺伝子医療学 教授 業績

1. Toyooka, S., Ouchida, M., Jitsumori, Y., Tsukuda, K., Sakai, A., Nakamura, A., Shimizu, N., Shimizu, K. : HD-PTP: A novel protein tyrosine phosphatase gene on human chromosome 3p21.3. *Biochem Biophys Res Commun.*, 278: 671-678, 2000
2. Toyooka, S., Pass, H.I., Shivapurkar, N., Fukuyama, Y., Maruyama, R., Toyooka, K.O., Gilcrease, M., Farinas, A., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : Aberrant methylation and simian virus 40 tag sequences in malignant mesothelioma. *Cancer Res.*, 61: 5727-5730, 2001
3. Toyooka, S., Toyooka, K.O., Maruyama, R., Virmani, A.K., Girard, L., Miyajima, K., Harada, K., Ariyoshi, Y., Takahashi, T., Sugio, K., Brambilla, E., Gilcrease, M., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : DNA Methylation Profiles of Lung Tumors. *Mol Cancer Ther.*, 1: 61-67, 2001
4. Toyooka S., Fukuyama, Y., Wistuba, I., Tockman, M.S., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : Differential expression of FEZ1/LZTS1 gene in lung cancers. *Clin Cancer Res.*, 8: 2292-2297, 2002
5. Toyooka, S., Carbone, M., Toyooka, K.O., Bocchetta, M., Shivapurkar, N., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : Progressive aberrant methylation of the RASSF1A gene in simian virus 40 infected human mesothelial cells. *Oncogene*, 21: 4345-4349, 2002
6. Toyooka, S., Toyooka, K.O., Harada, K., Miyajima, K., Makarla, P., Sathyanarayana, U.G., Yin, J., Sato, F., Shivapurkar, N., Meltzer, S.J., Gazdar, A.F. : Aberrant methylation of the CDH13
7. Toyooka, S., Maruyama, R., Toyooka, K.O., McLerran, D., Feng, Z., Fukuyama, Y., Virmani, A.K., Zochbauer-Muller, S., Tsukuda, K., Sugio, K., Shimizu, N., Shimizu, K., Lee, H., Chen, C.Y., Fong, K.M., Gilcrease, M., Roth, J.A., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : Smoke exposure, histologic type and geography-related differences in the methylation profiles of non-small cell lung cancer. *Int J Cancer.*, 103: 153-160, 2003
8. Toyooka, S., Tsuda, T., Gazdar, A.F. : The TP53 gene, tobacco exposure, and lung cancer. *Hum Mutat.*, 21: 229-239, 2003
9. Toyooka, S., Toyooka, K.O., Miyajima, K., Reddy, J.L., Toyota, M., Sathyanarayana, U.G., Padar, A., Tockman, M.S., Lam, S., Shivapurkar, N., Gazdar, A.F. : Epigenetic down regulation of death associated protein kinase in lung cancers. *Clin Cancer Res.*, 9: 3034-3041, 2003
10. Toyooka, S., Tsukuda, K., Ouchida, M., Tanino, M., Inaki, Y., Kobayashi, K., Soh, J., Yano, M., Kobatake, T., Shimizu, N., Shimizu, K. : Detection of K-ras gene mutation at codon 61 in lung and colorectal cancers by enriched PCR-RFLP. *Oncol Rep.*, 10: 1455-1459, 2003
11. Toyooka, S., Shimizu, N. : Models for studying DNA methylation in human cancer: a review of

current status. Drug Discovery Today: Disease Model, 1: 37-42, 2004

12. Toyooka, S., Suzuki, M., Tsuda, T., Toyooka, K.O., Maruyama, R., Tsukuda, K., Fukuyama, Y., Iizasa, T., Fujisawa, T., Shimizu, N., Minna, J.D., Gazdar, A.F. : Dose effect of smoking on aberrant methylation in non-small cell lung cancers. Int J Cancer., 110:462-464, 2004
13. Toyooka, S., Suzuki, M., Maruyama, R., Toyooka, K.O., Tsukuda, K., Fukuyama, Y., Iizasa, T., Aoe, M., Date, H., Fujisawa, T., Shimizu, N., Gazdar, A.F. : The relationship between aberrant methylation and survival in non-small cell lung cancers. Br J Cancer., 91: 771-774, 2004
14. Toyooka, S., Kiura, K., Mitsudomi, T. : EGFR mutation and response of lung cancer to gefitinib. N Engl J Med, 352: 2136, 2005
15. Toyooka, S., Tokumo, M., Shigematsu, H., Matsuo, K., Asano, H., Tomii, K., Ichihara, S., Suzuki, M., Aoe, M., Date, H., Gazdar, A.F., Shimizu, N. : Mutational and epigenetic evidence for independent pathways for lung adenocarcinomas arising in smokers and never smokers. Cancer Res., 66: 1371-1375, 2006
16. Toyooka, S., Yatabe, Y., Tokumo, M., Ichimura, K., Asano, H., Tomii, K., Aoe, M., Yanai, H., Date, H., Mitsudomi, T., Shimizu, N. : Mutation of epidermal growth factor receptor and K-ras genes in adenocarcinoma of the lung. Int J Cancer, 118: 1588-1590, 2006
17. Tomii, K., Tsukuda, K., Toyooka, S., Date, H., Hanafusa, T., Asano, H., Naitou, M., Doihara, H., Kishimoto, T., Katayama, H., Pass, H.I., Date, H., Shimizu, N. : Aberrant promoter methylation of insulin-like growth factor binding protein-3 gene in human cancers. Int J Cancer., 120: 566-573, 2007
18. Toyooka, S., Sano, Y., Yamane, M., Oto, T., Okazaki, M., Kusano, K.F., Date, H. : Long-term follow-up of living-donor single lobe transplantation for idiopathic pulmonary arterial hypertension in a child. J Thorac Cardiovasc Surg., 135: 451-452, 2008
19. Toyooka S, Kusano KF, Goto K, M Yamane, Oto T, Sano Y, Fuke S, Okazaki M, Ohe T, Kasahara S, Sano S, Date H. Right but not left ventricular function recovers early after living-donor lobar lung transplantation in patients with pulmonary arterial hypertension. J Thorac Cardiovasc Surg., 138:222-226, 2009
20. Toyooka, S., Kishimoto, T., Date H. : Advances in the molecular biology of malignant mesothelioma. Acta Med Okayama, 62: 1-7, 2008

2) 宗 淳一

職歴

平成10年3月 岡山大学医学部医学科卒業

平成19年3月 岡山大学大学院医学研究科修了（学位取得）

平成19年4月 テキサス州立大学サウスウェスタンメディカルセンターポスドク
（2年間）

平成21年10月 岡山大学病院 呼吸器外科 助教

業績

1. Soh J, Okumura N, Lockwood WW, Yamamoto H, Shigematsu H, Zhang W, Chari R, Shames DS, Tang X, MacAulay C, Varella-Garcia M, Vooder T, Wistuba II, Lam S, Brekken R, Toyooka S, Minna JD, Lam WL, Gazdar AF. Oncogene mutations, copy number gains and mutant allele specific imbalance (MASI) frequently occur together in tumor cells. *PLoS One*. 2009 Oct 14;4(10):e7464.
2. Soh J, Toyooka S, Ichihara S, Asano H, Kobayashi N, Suehisa H, Otani H, Yamamoto H, Ichimura K, Kiura K, Gazdar AF, Date H. Sequential molecular changes during multistage pathogenesis of small peripheral adenocarcinomas of the lung. *J Thorac Oncol*. 2008 Apr;3(4):340-7.
3. Soh J, Toyooka S, Ichihara S, Hujiiwara Y, Hotta K, Suehisa H, Kobayashi N, Ichimura K, Aoe K, Aoe M, Kiura K and Date H. Impact of HER2 and EGFR Gene Status on Gefitinib Treated Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer. *Int J Cancer*. 2007 Sep 1;121(5):1162-7.
4. Soh J, Toyooka S, Ichihara S, Kobayashi N, Ito S, Yamane M, Aoe M, Sano Y, Kiura K and Date H. EGFR mutation status in pleural fluid predicts tumor responsiveness and resistance to gefitinib. *Lung Cancer* 2007 Jun;56(3):445-8.
5. Soh J, Toyooka S, Aoe K, Asano H, Ichihara S, Katayama H, Hiraki A, Kiura K, Aoe M, Sano Y, Sugi K, Shimizu N, and Date H. Usefulness of *EGFR* Mutation Screening in Pleural Fluid to Predict the Clinical Outcome of Gefitinib Treated Patients with Lung Cancer. *Int. J Cancer* 2006 Aug 18;119(10):2353-2358
6. Gandhi J, Zhang J, Xie Y, Soh J, Shigematsu H, Zhang W, Yamamoto H, Peyton M, Girard L, Lockwood WW, Lam WL, Varella-Garcia M, Minna JD, Gazdar AF. Alterations in genes of the EGFR signaling pathway and their relationship to EGFR tyrosine kinase inhibitor sensitivity in lung cancer cell lines. *PLoS One*. 2009;4(2):e4576. Epub 2009 Feb 24.
7. Hosokawa S, Toyooka S, Fujiwara Y, Tokumo M, Soh J, Takigawa N, Hotta K, Yoshino T, Date H, Tanimoto M, Kiura K. Comprehensive analysis of EGFR signaling pathways in Japanese patients with non-small cell lung cancer. *Lung Cancer*. 2009 Oct;66(1):107-13.]
8. Zhang W, Peyton M, Xie Y, Soh J, Minna JD, Gazdar AF, Frenkel EP. Histone deacetylase inhibitor romidepsin enhances anti-tumor effect of erlotinib in non-small cell lung cancer (NSCLC) cell lines. *J Thorac Oncol*. 2009 Feb;4(2):161-6.
9. Kubo T, Yamamoto H, Lockwood WW, Valencia I, Soh J, Peyton M, Jida M, Otani H, Fujii T, Ouchida M, Takigawa N, Kiura K, Shimizu K, Date H, Minna JD, Varella-Garcia M, Lam WL, Gazdar AF, Toyooka S. MET gene amplification or EGFR mutation activate MET in lung cancers untreated with EGFR tyrosine kinase inhibitors. *Int J Cancer*. 2009 Apr 15;124(8):1778-84.
10. Pratilas CA, Hanrahan AJ, Halilovic E, Persaud Y, Soh J, Chitale D, Shigematsu H, Yamamoto H, Sawai A, Janakiraman M, Taylor BS, Pao W, Toyooka S, Ladanyi M, Gazdar A, Rosen N, Solit DB. Genetic predictors of MEK dependence in non-small cell lung cancer. *Cancer Res*. 2008 Nov 15;68(22):9375-83.

11. Kimura K, Toyooka S, Tsukuda K, Yamamoto H, Suehisa H, Soh J, Otani H, Kubo T, Aoe K, Fujimoto N, Kishimoto T, Sano Y, Pass HI, Date H. The aberrant promoter methylation of BMP3b and BMP6 in malignant pleural mesotheliomas. *Oncol Rep.* 2008 Nov;20(5):1265-8.
12. Yamamoto H, Shigematsu H, Nomura M, Lockwood WW, Sato M, Okumura N, Soh J, Suzuki M, Wistuba II, Fong KM, Lee H, Toyooka S, Date H, Lam WL, Minna JD, Gazdar AF. PIK3CA mutations and copy number gains in human lung cancers. *Cancer Res.* 2008 Sep 1;68(17):6913-21.
13. Kobayashi N, Toyooka S, Ichimura K, Soh J, Yamamoto H, Matsuo K, Otani H, Jida M, Kubo T, Tsukuda K, Kiura K, Sano Y, Date H. Non-BAC component but not epidermal growth factor receptor gene mutation is associated with poor outcomes in small adenocarcinoma of the lung. *J Thorac Oncol.* 2008 Jul;3(7):704-10.
14. Otani H, Toyooka S, Soh J, Yamamoto H, Suehisa H, Kobayashi N, Gobara H, Mimura H, Kiura K, Sano Y, Kanazawa S, Date H. Detection of EGFR gene mutations using the wash fluid of CT-guided biopsy needle in NSCLC patients. *J Thorac Oncol.* 2008 May;3(5):472-6.
15. Kobayashi N, Toyooka S, Yanai H, Soh J, Fujimoto N, Yamamoto H, Ichihara S, Kimura K, Ichimura K, Sano Y, Kishimoto T, Date H. Frequent p16 inactivation by homozygous deletion or methylation is associated with a poor prognosis in Japanese patients with pleural mesothelioma. *Lung Cancer.* 2008 Oct;62(1):120-5. Epub 2008 Apr 18.

3) 山根正修

職歴

平成8年4月	岡山大学医学部附属病院 腫瘍・胸部外科 医員（研修医）
平成8年9月	屋島総合病院 外科 研修医
平成10年9月	岡山大学医学部附属病院 腫瘍・胸部外科 医員、研究生
平成13年9月	Thoracic Surgery Research Laboratory, Toronto General Research Institute(トロント大学 トロント総合病院 胸部外科)、研究員
平成15年7月	岡山大学医学部附属病院 腫瘍・胸部外科 医員
平成15年9月	三豊総合病院 外科 副医長
平成18年4月	岡山大学医学部・歯学部附属病院 腫瘍・胸部外科 助手
平成19年4月	岡山大学医学部・歯学部附属病院 腫瘍・胸部外科 助教
平成21年4月	岡山大学病院 腫瘍・胸部外科 助教
平成24年9月	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科・医学教育リノベーションセンター 准教授

業績

1. Native lung-sparing lobar transplantation for pulmonary emphysema. Yamane M, Okutani D, Sugimoto S, Toyooka S, Aoe M, Okazaki M, Sano Y, Date H. *J Heart Lung Transplant.* 2008;27:1046-1049

2. Living-Donor Lobar Lung Transplantation for Pulmonary Complications after Bone Marrow Transplantation.
Yamane M, Sano Y, Toyooka S, Okazaki M, Date H, Oto T. Transplantation.2008, accepted
3. Living-donor lobar lung transplantation
Date H, Yamane M, Toyooka S, Oto T, Sano Y. Curr Opin Organ Transplant 12:469-472.
4. Living-donor lobar lung transplantation for pulmonary arterial hypertension after failure of epoprostenol therapy.
Date H, Kusano KF, Matsubara H, Ogawa A, Fujio H, Miyaji K, Okazaki M, Yamane M, Toyooka S, et al. J Am Coll Cardiol. 2007 Aug 7;50(6):523-7.
5. Improvement in Pulmonary Function after Living-Donor Lobar Lung Transplantation
Yamane M, Date H, Okazaki M, Aoe M, and Sano Y. J Heart Lung Transplant. 2007;26:681-6
6. Presensitization Accelerates Chronic Allograft Rejection in a Heterotopic Rat Tracheal Allograft Model with Immunosuppression
Okumoto T, Yamane M, Sano Y, Aoe M, Date H, and Shimizu N
Transplant Immunology 2007;17:249-54
7. Reperfusion-induced gene expression profiles in rat lung transplantation.
Yamane M, Liu M, Kaneda H, Uhlig S, Waddell TK, Keshavjee S.
Am J Transplant. 2005 Sep;5(9):2160-9.
8. Significant changes in the alloantibody after lung transplantation in the cyclosporine treated rat model
Yamane M, Sano Y, Shimizu N Transplant Immunology 2004; 12(2):143-150.
9. Transbronchial administration of adenoviral-mediated interleukin-10 gene to the donor improves function in a pig lung transplant model.
Martins S, de Perrot M, Yamane M, Waddell TK, Liu M, Keshavjee S. Gene Therapy 11(24):1786-96,2004.
10. Humoral immune responses during acute rejection in rat lung transplantation
Yamane M, Sano Y, Aoe M, Date H, Shimizu N. Transplant Immunology 11:31-37,2003.

4) 大藤剛宏

職歴

平成4年3月	岡山大学医学部卒業
平成4年5月	医師免許取得 岡山大学医学部附属病院医員(研修医)
平成14年	岡山大学博士(医学)取得
平成14年	豪州メルボルンアルフレッド病院心肺移植センターに臨床シニアフェローとして留学
平成19年2月	岡山大学医学部・歯学部附属病院 助手
平成19年4月	岡山大学医学部・歯学部附属病院 助教
平成21年4月	岡山大学病院 呼吸器外科 助教

平成 21 年 10 月 岡山大学病院 呼吸器外科 講師

平成 23 年 4 月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 呼吸器・乳腺内分泌外科学
准教授
業績

1. Hemophagocytic syndrome: a rare but specific complication of lung transplantation.
Oto T, Snell GI, Goto K, Miyoshi S. J Thorac Cardiovasc Surg. 2010;140:e58-9.
2. Suppression of inflammatory cytokines during ex vivo lung perfusion with an adsorbent membrane. Kakishita T, Oto T, Hori S, et al. Ann Thorac Surg. 2010;89:1773-9.
3. Three-dimensional structure of pulmonary capillary vessels in patients with pulmonary hypertension. Miura A, Nakamura K, Kusano KF, Matsubara H, Ogawa A, Akagi S, Oto T, Murakami T, Ohtsuka A, Yutani C, Ohe T, Ito H. Circulation. 2010 18;121:2151-3
4. Calcineurin inhibitor-related cholestasis complicating lung transplantation.
Oto T, Okazaki M, Takata K, Egi M, Yamane M, Toyooka S, Sano Y, Snell GI, Goto K, Miyoshi S. Ann Thorac Surg. 2010;89(5):1664-5.
5. Inhibitory effects of simvastatin on platelet-derived growth factor signaling in pulmonary artery smooth muscle cells from patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension.
Ikeda T, Nakamura K, Akagi S, Kusano KF, Matsubara H, Fujio H, Ogawa A, Miura A, Miura D, Oto T, Yamanaka R, Otsuka F, Date H, Ohe T, Ito H. J Cardiovasc Pharmacol. 2010;55(1):39-48
6. Aprotinin in lung transplantation is associated with an increased incidence of primary graft dysfunction. Marasco SF, Pilcher D, Oto T, Chang W, Griffiths A, Pellegrino V, Chan J, Bailey M. Eur J Cardiothorac Surg. 2010 Feb;37(2):420-5.
7. Bronchial healing after living-donor lobar lung transplantation.
Toyooka S, Yamane M, Oto T, Sano Y, Okazaki M, Date H. Surg Today. 2009;39(11):938-43.
8. Extracorporeal membrane oxygenation bridging to living-donor lobar lung transplantation.
Miyoshi K, Oto T, Okazaki M, Yamane M, Toyooka S, Goto K, Sano Y, Sano S, Miyoshi S. Ann Thorac Surg. 2009 Nov;88(5):e56-7
9. Living-donor lobar lung transplantation and closure of atrial septal defect for adult Eisenmenger's syndrome. Aokage K, Date H, Okazaki M, Sano Y, Oto T, Kusano K, Goto K, Sano S, Miyoshi S. J Heart Lung Transplant. 2009;28(10):1107-9.
10. Registry of the Japanese Society of Lung and Heart-Lung Transplantation: the official Japanese lung transplantation report 2008. Shiraishi T, Okada Y, Sekine Y, Chida M, Bando T, Minami M, Oto T, Nagayasu T, Date H, Kondo T. Gen Thorac Cardiovasc Surg. 2009;57(8):395-401.
11. p38 Mitogen-activated protein kinase inhibition reduces inflammatory cytokines in a brain-dead transplant donor animal model.
Oto T, Calderone A, Li Z, Rosenfeldt FL, Pepe S. Heart Lung Circ. 2009;18(6):393-400.

12. Right but not left ventricular function recovers early after living-donor lobar lung transplantation in patients with pulmonary arterial hypertension. Toyooka S, Kusano KF, Goto K, Masaomi Y, Oto T, Sano Y, Fuke S, Okazaki M, Ohe T, Kasahara S, Sano S, Date H. J Thorac Cardiovasc Surg. 2009;138(1):222-6.
13. Experimental orthotopic lung transplantation model in rats with cold storage. Sugimoto R, Nakao A, Nagahiro I, Kohmoto J, Sugimoto S, Okazaki M, Yamane M, Inokawa H, Oto T, Tahara K, Zhan J, Sano Y, McCurry KR. Surg Today. 2009;39(7):641-5.
14. Living-donor lobar lung transplantation for pulmonary complications after hematopoietic stem cell transplantation. Yamane M, Sano Y, Toyooka S, Okazaki M, Date H, Oto T. Transplantation. 2008;86(12):1767-70.
15. Favorable outcomes after living-donor lobar lung transplantation in ventilator-dependent patients. Toyooka S, Yamane M, Oto T, Sano Y, Okazaki M, Hanazaki M, Goto K, Date H. Surg Today. 2008;38(12):1078-82.
16. Sirolimus ameliorated post lung transplant chylothorax in lymphangiomyomatosis. Ohara T, Oto T, Miyoshi K, Tao H, Yamane M, Toyooka S, Okazaki M, Date H, Sano Y. Ann Thorac Surg. 2008;86(6):e7-8.
17. Availability of lungs for transplantation: exploring the real potential of the donor pool. Snell GI, Griffiths A, Levvey BJ, Oto T. J Heart Lung Transplant. 2008;27(6):662-7.
18. Effect of multiorgan donation after cardiac death retrieval on lung performance. Snell GI, Levvey B, Oto T, McEgan R, Mennan M, Eriksson L, Williams T, Rosenfeldt F. ANZ J Surg. 2008 Apr;78(4):262-5.
19. Long-term follow-up of living-donor single lobe transplantation for idiopathic pulmonary arterial hypertension in a child. Toyooka S, Sano Y, Yamane M, Oto T, Okazaki M, Kusano KF, Date H. J Thorac Cardiovasc Surg. 2008;135(2):451-2.
20. The implications of pulmonary embolism in a multiorgan donor for subsequent pulmonary, renal, and cardiac transplantation. Oto T, Excell L, Griffiths AP, Levvey BJ, Snell GI. J Heart Lung Transplant. 2008;27(1):78-85.

5) 三好新一郎

職歴

昭和 5 2 年 3 月	大阪大学医学部卒業
昭和 5 2 年 7 月	大阪大学医学部附属病院第一外科で研修
昭和 6 1 年 7 月	大阪大学医学部第一外科 助手
昭和 6 2 年 7 月	カナダ トロント大学胸部外科

昭和63年7月 平成元年6月 米国 ワシントン大学胸部外科
 平成3年9月 大阪大学医学部 講師
 平成3年10月 和歌山県立医科大学 助教授（第一外科）
 平成9年4月 大阪大学医学部 助教授（第一外科）
 平成13年4月 獨協医科大学 教授（胸部外科）
 平成21年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科呼吸器・乳腺内分泌外科学教

授

業績

1. Miyoshi S, Nakahara K, Ohno K, Monden Y, and Kawashima Y. Exercise tolerance test in lung cancer patients: The relationship between exercise capacity and postthoracotomy hospital mortality. *Ann Thorac Surg* 44:487-490,1987
2. Miyoshi S, Nakahara K, Monden Y, and Kawashima Y. Effect of lung resection on blood lactate threshold in lung cancer patients. *Eur J Appl Physiol* 57:388-393,1988
3. Miyoshi S, Trulock EP, Schaefer H-J, Hsieh C-M, Patterson GA, Cooper JD. Cardiopulmonary Exercise Testing After Single and Double Lung Transplantation. *Chest* 97:1130-1136,1990
4. Miyoshi S, Schaefer H-J, Trulock EP, Yamazaki F, Schreinemakers H, Patterson GA, Cooper JD. Donor Selection for Single and Double Lung Transplantation: Chest Size Matching and Other Factors Influencing Posttransplantation Vital Capacity. *Chest* 98:308-313,1990
5. Weder W, Harper BD, Shimokawa S, Miyoshi S, Schreinemakers H, Date H, Cooper JD. The effect of intra-alveolar oxygen concentration on lung preservation in a rabbit model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 101:1037-1043,1991
6. Miyoshi S, Shimokawa S, Schreinemakers H, Date H, Weder W, Harper B, Cooper JD. Comparison of the University of Wisconsin Preservation Solution and Other Crystallloid Perfusates Using A 30 Hour Rabbit Lung Preservation Model. *J Thorac Cardiovasc Surg* 103:27-32,1992
7. Yoshimasu T, Miyoshi S, Maebeya S, Suzuma T, Bessho T, Hirai I, Tanino H, Arimoto J, Naito Y. Analysis of the Early Postoperative Serum Carcinoembryonic Antigen Time-Course as a Prognostic Tool for Bronchogenic Carcinoma. *Cancer* 79:1533-40,1997
8. Okumura M, Miyoshi S, Takeuchi Y, Yoon H-E, Minami m, Takeda S, Fujii Y, Nakahara K, Matsuda H. Results of Surgical Treatment of Thymomas with Special Reference to the Involved Organs. *J Thorac Cardiovasc Surg* 117: 605-613,1999.
9. Miyoshi S, Yoshimasu T, Hirai T, Hirai I, Maebeya S, Bessho T, Naito, Y. Exercise capacity of thoracotomy patients in the early postoperative period. *Chest* 118:384-390,2000
10. Inoue M, Miyoshi S, Yasumitsu T, Mori T, Iuchi K, Maeda H, Matsuda H, for the Thoracic Surgery Study Group of Osaka University. Surgical results for small cell lung cancer based on the new TNM staging system. *Ann Thorac Surg* 70:1615-1619,2000
11. Sakamaki Y, Matsumoto K, Mizuno S, Miyoshi S, Matsuda H, Nakamura T. Hepatocyte Growth Factor Stimulates Proliferation of Respiratory Epithelial Cells during Postpneumectomy

- Compensatory Lung Growth in Mice. Am J Respir Cell Mol Biol 26:525-533,2002
12. Oji Y, Miyoshi S, Maeda H, Hayashi S, Tamaki H, Nakatsuka S, Yao M, Takahashi E, Nakano Y, Hirabayashi H, Shintani Y, Oka Y, Tsuboi A, Hosen N, Asada M, Fujioka T, Murakami M, Kanato K, Motomura M, Kim E, Kawakami M, Ikegame K, Ogawa H, Aozasa K, Kawase I, and Sugiyama H. Overexpression Of The Wilms' Tumor Gene WT 1 In De Novo Lung Cancers. Int J Cancer 100:297-303,2002
 13. Shintani Y, Ohta M, Hirabayashi H, Tanaka H, Iuchi K, Nakagawa K, Maeda H, Kido T, Miyoshi S, and Matsuda H. New prognostic indicator for non-small-cell lung cancer, quantitation of thymidylate synthase by real-time reverse transcription polymerase chain reaction. Int J Cancer 104:790-795,2003
 14. Miyoshi S, Iuchi K, Nakamura K, Nakagawa K, Maeda H, Ohno K, Nakahara K, Nakano N, Okumura M, Ohta M. Induction concurrent chemoradiation therapy for invading apical non-small cell lung cancer. Jpn J Thorac Cardiovasc Surg 52:120-126,2004
 15. Yoshimasu T, Miyoshi S, Oura S, Hirai I, Kokawa Y, Okamura Y. Limited mediastinal lymph node dissection for non-small cell lung cancer according to intraoperative histologic examinations. J Thorac Cardiovasc Surg 130:433-437,2005

6) 堀田勝幸

職歴

平成7年3月 岡山大学医学部医学科卒業
 平成7年5月 岡山大学医学部附属病院第二内科医員(研修医)
 平成7年7月 国立福山病院研修医
 平成8年6月 岡山大学医学部附属病院第二内科医員(研修医)
 平成9年4月 岡山大学医学部附属病院第二内科医員
 平成9年6月 国立病院四国がんセンター内科(レジデント)
 平成10年6月 国立がんセンター中央病院内科(レジデント)
 平成13年4月 岡山大学大学院医歯学総合研究科 入学
 平成16年4月 岡山大学保健環境センター 助手
 平成16年9月 岡山大学大学院医歯学総合研究科 修了
 平成19年4月 岡山大学保健環境センター 助教
 平成20年4月 岡山大学大学院医歯学総合研究科・血液・腫瘍・呼吸器・アレルギー内科学 助教
 平成25年4月 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 助教

業績

1. Hotta K, Kiura K, Takigawa N, Yoshioka H, Hayashi H, Fukuyama H, Nishiyama A, Yokoyama T, Kuyama S, Umemura S, Kato Y, Nogami N, Segawa Y, Yasugi M, Tabata M, Tanimoto M. Desire for information and involvement in treatment decisions: lung cancer patients' preferences and their physicians' perceptions: results from Okayama Lung Cancer Study Group Trial 0705. J Thorac Oncol. 2010:1668-72.

2. Fujiwara Y, Hotta K, Di Maio M, Kiura K, Takigawa N, Tabata M, Tanimoto M. Time trend in treatment-related deaths of patients with advanced non-small-cell lung cancer enrolled into phase III trials of systemic treatment. Ann Oncol. 2010 (in press).
3. Hotta K, Kiura K, Takigawa N, Suzuki E, Yoshioka H, Okada T, Kishino D, Ueoka H, Inoue K, Tabata M, Tanimoto M. Association between poor performance status and risk for toxicity during erlotinib monotherapy in Japanese patients with non-small cell lung cancer: Okayama Lung Cancer Study Group experience. Lung Cancer. 2010 (in press).
4. Hotta K, Kiura K, Takigawa N, Yoshioka H, Harita S, Kuyama S, Yonei T, Fujiwara K, Maeda T, Aoe K, Ueoka H, Kamei H, Umemura S, Moritaka T, Segawa Y, Kawai H, Bessho A, Kato K, Tabata M, Tanimoto M. Comparison of the incidence and pattern of interstitial lung disease during erlotinib and gefitinib treatment in Japanese Patients with non-small cell lung cancer: the Okayama Lung Cancer Study Group experience. J Thorac Oncol. 2010;5:179-84.

7) 田端雅弘

職歴：

昭和60年4月 岡山大学医学部附属病院 医員（研修医）
 昭和60年9月 国立岡山病院内科 研修医
 昭和61年9月 山口県南陽病院内科 研修医
 昭和62年9月 癌研究会附属病院 化学療法科 レジデント
 平成元年9月 岡山大学医学部附属病院第二内科 医員
 平成3年9月 岡山大学医学部附属病院第二内科 助手
 平成9年10月 米国 Roswell Park Cancer Institute, post-doctoral fellow
 平成11年2月 米国 Cleveland Clinic, Taussig Cancer Center,
 post-doctoral fellow
 平成12年11月 岡山大学医学部・歯学部附属病院血液・腫瘍・呼吸器内科助手
 平成17年4月 岡山大学医学部・歯学部附属病院血液・腫瘍・呼吸器内科講師
 平成18年10月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 腫瘍センター 准教授
 （センター長）
 平成21年4月 岡山大学病院 腫瘍センター 准教授（センター長）

業績

1. Yoshioka, H., K. Hotta, K. Kiura, N. Takigawa, H. Hayashi, S. Harita, S. Kuyama, Y. Segawa, H. Kamei, S. Umemura, A. Bessho, M. Tabata and M. Tanimoto (2010): "A phase II trial of erlotinib monotherapy in pretreated patients with advanced non-small cell lung cancer who do not possess active EGFR mutations: Okayama Lung Cancer Study Group trial 0705." J Thorac Oncol 5(1): 99-104.
2. Segawa, Y., K. Kiura, N. Takigawa, H. Kamei, S. Harita, S. Hiraki, Y. Watanabe, K. Sugimoto, T. Shibayama, T. Yonei, H. Ueoka, M. Takemoto, S. Kanazawa, I. Takata, N. Nogami, K. Hotta, A. Hiraki, M. Tabata, K. Matsuo and M. Tanimoto (2010). "Phase III trial comparing docetaxel and cisplatin combination chemotherapy with mitomycin, vindesine, and cisplatin

- combination chemotherapy with concurrent thoracic radiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer: OLCSG 0007." *J Clin Oncol* 28(20): 3299-3306.
3. Hotta, K., K. Kiura, N. Takigawa, H. Yoshioka, H. Hayashi, H. Fukuyama, A. Nishiyama, T. Yokoyama, S. Kuyama, S. Umemura, Y. Kato, N. Nogami, Y. Segawa, M. Yasugi, M. Tabata and M. Tanimoto (2010). "Desire for information and involvement in treatment decisions: lung cancer patients' preferences and their physicians' perceptions: results from Okayama Lung Cancer Study Group Trial 0705." *J Thorac Oncol* 5(10): 1668-1672.
 4. T. Shibayama, K. Matsuo, H. Kamei, Y. Fujiwara, A. Bessho, T. Moritaka, K. Sugimoto, M. Tabata, H. Ueoka and M. Tanimoto (2009). "Sex difference in the influence of smoking status on the responsiveness to gefitinib monotherapy in adenocarcinoma of the lung: Okayama Lung Cancer Study Group experience." *J Cancer Res Clin Oncol* 135(1): 117-123.
 5. Hotta, K., K. Kiura, Y. Fujiwara, N. Takigawa, I. Oze, N. Ochi, M. Tabata and M. Tanimoto (2009). "Association between incremental gains in the objective response rate and survival improvement in phase III trials of first-line chemotherapy for extensive disease small-cell lung cancer." *Ann Oncol* 20(5): 829-834.
 6. Chikamori, K., D. Kishino, N. Takigawa, K. Hotta, N. Nogami, H. Kamei, S. Kuyama, K. Gemba, M. Takemoto, S. Kanazawa, H. Ueoka, Y. Segawa, S. Takata, M. Tabata, K. Kiura and M. Tanimoto (2009). "A phase I study of combination S-1 plus cisplatin chemotherapy with concurrent thoracic radiation for locally advanced non-small cell lung cancer." *Lung Cancer* 65(1): 74-79.
 7. Umemura, S., N. Fujimoto, A. Hiraki, K. Gemba, N. Takigawa, K. Fujiwara, M. Fujii, H. Umemura, M. Satoh, M. Tabata, H. Ueoka, K. Kiura, T. Kishimoto and M. Tanimoto (2008). "Aberrant promoter hypermethylation in serum DNA from patients with silicosis." *Carcinogenesis* 29(9): 1845-1849.
 8. Kuyama, S., K. Hotta, M. Tabata, Y. Segawa, Y. Fujiwara, N. Takigawa, K. Kiura, H. Ueoka, K. Eguchi and M. Tanimoto (2008). "Impact of HER2 gene and protein status on the treatment outcome of cisplatin-based chemoradiotherapy for locally advanced non-small cell lung cancer." *J Thorac Oncol* 3(5): 477-482.
 9. Ichihara, E., M. Tabata, N. Takigawa, Y. Sato, E. Kondo, M. Aoe, K. Kiura and M. Tanimoto (2008). "Synchronous pulmonary MALT lymphoma and pulmonary adenocarcinoma after metachronous gastric MALT lymphoma and gastric adenocarcinoma." *J Thorac Oncol* 3(11): 1362-1363.
 10. Fujiwara, Y., K. Kiura, S. Toyooka, K. Hotta, M. Tabata, N. Takigawa, J. Soh, Y. Tanimoto, A. Kanehiro, K. Kato, H. Date and M. Tanimoto (2008). "Elevated serum level of sialylated glycoprotein KL-6 predicts a poor prognosis in patients with non-small cell lung cancer treated with gefitinib." *Lung Cancer* 59(1): 81-87.
 11. Fujiwara, Y., K. Kiura, M. Tabata, N. Takigawa, K. Hotta, S. Umemura, M. Omori, K. Gemba, H. Ueoka and M. Tanimoto (2008). "Remarkable shrinkage of sarcomatoid renal cell carcinoma with single-agent gemcitabine." *Anticancer Drugs* 19(4): 431-433.

12. Uchida, A., S. Hirano, H. Kitao, A. Ogino, K. Rai, S. Toyooka, N. Takigawa, M. Tabata, M. Takata, K. Kiura and M. Tanimoto (2007). "Activation of downstream epidermal growth factor receptor (EGFR) signaling provides gefitinib-resistance in cells carrying EGFR mutation." *Cancer Sci* 98(3): 357-363.
13. Tabata, M., T. Kozuki, H. Ueoka, K. Kiura, S. Harita, A. Tada, T. Shibayama, N. Takigawa, T. Yonei, K. Gemba, Y. Segawa, D. Kishino, S. Tada, S. Hiraki and M. Tanimoto (2007). "A triplet chemotherapy with cisplatin, docetaxel and gemcitabine in patients with advanced non-small-cell lung cancer: a phase I/II study." *Cancer Chemother Pharmacol* 60(1): 53-59.
14. Tabata, M., K. Kiura, N. Okimoto, Y. Segawa, T. Shinkai, T. Yonei, S. Kuyama, S. Harita, K. Hotta, H. Ueoka and M. Tanimoto (2007). "A phase II trial of cisplatin and irinotecan alternating with doxorubicin, cyclophosphamide and etoposide in previously untreated patients with extensive-disease small-cell lung cancer." *Cancer Chemother Pharmacol* 60(1): 1-6.
15. Kozuki, T., A. Hisamoto, M. Tabata, N. Takigawa, K. Kiura, Y. Segawa, M. Nakata, K. Mandai, K. Eguchi, H. Ueoka and M. Tanimoto (2007). "Mutation of the epidermal growth factor receptor gene in the development of adenocarcinoma of the lung." *Lung Cancer* 58(1): 30-35.
16. Kiura, K., N. Takigawa, Y. Segawa, M. Tabata, T. Shibayama, K. Gemba, A. Bessho, N. Fujimoto, I. Takata, K. Hotta, K. Fujiwara, Y. Tokuda, S. Kuyama, T. Shinkai, H. Ueoka and M. Tanimoto (2007). "Triple combination chemotherapy with cisplatin, docetaxel, and irinotecan for advanced non-small cell lung cancer: a phase I/II trial." *J Thorac Oncol* 2(1): 44-50.
17. Takigawa, N., K. Kiura, Y. Segawa, Y. Watanabe, H. Kamei, T. Moritaka, T. Shibayama, H. Ueoka, K. Gemba, T. Yonei, M. Tabata, T. Shinkai, S. Hiraki, M. Takemoto, S. Kanazawa, K. Matsuo and M. Tanimoto (2006). "Second primary cancer in survivors following concurrent chemoradiation for locally advanced non-small-cell lung cancer." *Br J Cancer* 95(9): 1142-1144.
18. Matsuo, K., K. Kiura, M. Tabata, A. Uchida, K. Hotta, D. Niiya, S. Kubonishi, A. Ogino, Y. Fujiwara, H. Nakajima, K. Shinagawa, F. Ishimaru, H. Ueoka and M. Tanimoto (2006). "Clustered incidence of acute promyelocytic leukemia during gefitinib treatment for non-small-cell lung cancer: experience at a single institution." *Am J Hematol* 81(5): 349-354.
19. Hotta, K., H. Ueoka, K. Kiura, M. Tabata, A. Ogino, S. Umemura, S. Harita, K. Gemba, T. Yonei, A. Bessho, T. Maeda and M. Tanimoto (2005). "Safety and efficacy of gefitinib treatment in elderly patients with non-small-cell lung cancer: Okayama Lung Cancer Study Group experience." *Acta Oncol* 44(7): 717-722.
20. Katayama, H., H. Ueoka, K. Kiura, M. Tabata, T. Kozuki, M. Tanimoto, T. Fujiwara, N. Tanaka, H. Date, M. Aoe, N. Shimizu, M. Takemoto and Y. Hiraki (2004). "Preoperative concurrent chemoradiotherapy with cisplatin and docetaxel in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer." *Br J Cancer* 90(5): 979-984.

21. Takahashi, N., R. Kawanishi-Tabata, A. Haba, M. Tabata, Y. Haruta, H. Tsai and B. K. Seon (2001). "Association of serum endoglin with metastasis in patients with colorectal, breast, and other solid tumors, and suppressive effect of chemotherapy on the serum endoglin." Clin Cancer Res 7(3): 524-532.
22. Tabata, M., R. Tabata, D. R. Grabowski, R. M. Bukowski, M. K. Ganapathi and R. Ganapathi (2001). "Roles of NF-kappaB and 26 S proteasome in apoptotic cell death induced by topoisomerase I and II poisons in human nonsmall cell lung carcinoma." J Biol Chem 276(11): 8029-8036.

8) 木浦勝行

職 歴

昭和58年3月 岡山大学医学部卒業
 昭和58年4月 岡山大学医学部第二内科入局
 昭和58年6月 岡山大学医学部附属病院第二内科医員（研修医）
 昭和58年9月 厚生連滝宮総合病院 医員
 昭和59年9月 国立岡山病院（現 NHO 岡山医療センター）臨床研修医
 昭和60年9月 国立病院四国がんセンター（現 NHO 四国がんセンター）レジデント
 昭和62年9月 岡山大学医学部附属病院第二内科医員
 平成4年1月 岡山大学医学部附属分子細胞医学研究施設 助手
 平成4年4月 岡山大学医学部附属病院第二内科 助手
 平成12年4月 岡山大学医学部附属病院第二内科 講師
 平成15年10月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 呼吸器内科講師
 平成17年7月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻
 病態機構学講座（血液・腫瘍・呼吸器内科学） 助教授
 平成19年7月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科病態制御科学専攻
 病態機構学講座（血液・腫瘍・呼吸器内科学） 准教授（名称変更）
 平成23年5月 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科 教授
 海外渡航歴：平成5年7月1日～平成7年6月30日

米国ニューヨーク州立大学バッファロー校留学 病理学教室 分子免疫生物学部門

業績

1. Ichihara E, Matsuoka J, Kiura K. Early palliative care in non-small-cell lung cancer. N Engl J Med. 2010;363(23):2263.
2. Segawa Y, Kiura K, Takigawa N, Kamei H, Harita S, Hiraki S, Watanabe Y, Sugimoto K, Shibayama T, Yonei T, Ueoka H, Takemoto M, Kanazawa S, Takata I, Nogami N, Hotta K, Hiraki A, Tabata M, Matsuo K, Tanimoto M. Phase III trial comparing docetaxel and cisplatin combination chemotherapy with mitomycin, vindesine, and cisplatin combination chemotherapy with concurrent thoracic radiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer: OLCSG 0007. J Clin Oncol. 2010;28(20):3299-306.
3. Ohashi K, Takigawa N, Osawa M, Ichihara E, Takeda H, Kubo T, Hirano S, Yoshino T, Takata M, Tanimoto M, Kiura K. Chemopreventive effects of gefitinib on nonsmoking-related lung

- tumorigenesis in activating epidermal growth factor receptor transgenic mice. *Cancer Res.* 2009;69(17):7088-95.
4. Ichihara E, Ohashi K, Takigawa N, Osawa M, Ogino A, Tanimoto M, Kiura K. Effects of vandetanib on lung adenocarcinoma cells harboring epidermal growth factor receptor T790M mutation in vivo. *Cancer Res.* 2009;69(12):5091-8.
 5. Ohashi K, Rai K, Fujiwara Y, Osawa M, Hirano S, Takata K, Kondo E, Yoshino T, Takata M, Tanimoto M, Kiura K. Induction of lung adenocarcinoma in transgenic mice expressing activated EGFR driven by the SP-C promoter. *Cancer Sci.* 2008;99(9):1747-53.
 6. Fujiwara Y, Hotta K, Kiura K. Prophylactic cranial irradiation in small-cell lung cancer. *N Engl J Med.* 2007;357(19):1977-8
 7. Ogino A, Kitao H, Hirano S, Uchida A, Ishiai M, Kozuki T, Takigawa N, Takata M, Kiura K, Tanimoto M. Emergence of epidermal growth factor receptor T790M mutation during chronic exposure to gefitinib in a non small cell lung cancer cell line. *Cancer Res.* 2007;67(16):7807-14.
 8. Takigawa N, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Fractionated administration of irinotecan and cisplatin in Japanese patients with extensive-stage-disease small-cell lung cancer. *J Clin Oncol.* 2006;24(32):5175
 9. Takigawa N, Kiura K, Segawa Y, Watanabe Y, Kamei H, Moritaka T, Shibayama T, Ueoka H, Gemba K, Yonei T, Tabata M, Shinkai T, Hiraki S, Takemoto M, Kanazawa S, Matsuo K, Tanimoto M; Okayama Lung Cancer Study Group. Second primary cancer in survivors following concurrent chemoradiation for locally advanced non-small-cell lung cancer. *Br J Cancer.* 2006;95(9):1142-4.
 10. Inukai M, Toyooka S, Ito S, Asano H, Ichihara S, Soh J, Suehisa H, Ouchida M, Aoe K, Aoe M, Kiura K, Shimizu N, Date H. Presence of epidermal growth factor receptor gene T790M mutation as a minor clone in non-small cell lung cancer. *Cancer Res.* 2006;66(16):7854-8. .
 11. Toyooka S, Date H, Uchida A, Kiura K, Takata M. The epidermal growth factor receptor D761Y mutation and effect of tyrosine kinase inhibitor. *Clin Cancer Res.* 2007;13(11):3431.
 12. Kiura K, Takigawa N, Segawa Y, Tabata M, Shibayama T, Gemba K, Bessho A, Fujimoto N, Takata I, Hotta K, Fujiwara K, Tokuda Y, Kuyama S, Shinkai T, Ueoka H, Tanimoto M; Okayama Lung Cancer Study Group. Triple combination chemotherapy with cisplatin, docetaxel, and irinotecan for advanced non-small cell lung cancer: a phase I/II trial. *J Thorac Oncol.* 2007;2(1):44-50.
 13. Kiura K, Saijo N. Can dose-dense chemotherapy improve outcome in patients with better-prognosis small-cell lung cancer? *Nat Clin Pract Oncol.* 2005;2(12):610-1.
 14. Toyooka S, Kiura K, Mitsudomi T. EGFR mutation and response of lung cancer to gefitinib. *N Engl J Med.* 2005;352(20):2136
 15. Tokumo M, Toyooka S, Kiura K, Shigematsu H, Tomii K, Aoe M, Ichimura K, Tsuda T, Yano M, Tsukuda K, Tabata M, Ueoka H, Tanimoto M, Date H, Gazdar AF, Shimizu N. The relationship between epidermal growth factor receptor mutations and clinicopathologic

- features in non-small cell lung cancers. Clin Cancer Res. 2005;11(3):1167-73.
16. Fujiwara K, Fujimoto N, Tabata M, Nishii K, Matsuo K, Hotta K, Kozuki T, Aoe M, Kiura K, Ueoka H, Tanimoto M. Identification of epigenetic aberrant promoter methylation in serum DNA is useful for early detection of lung cancer. Clin Cancer Res. 2005;11(3):1219-25.
 17. Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing Cisplatin to Carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. J Clin Oncol. 2004;22(19):3852-9.
 18. Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Role of adjuvant chemotherapy in patients with resected non-small-cell lung cancer: reappraisal with a meta-analysis of randomized controlled trials. J Clin Oncol. 2004;22(19):3860-7..
 19. Katayama H, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Kozuki T, Tanimoto M, Fujiwara T, Tanaka N, Date H, Aoe M, Shimizu N, Takemoto M, Hiraki Y. Preoperative concurrent chemoradiotherapy with cisplatin and docetaxel in patients with locally advanced non-small-cell lung cancer. Br J Cancer. 2004;90(5):979-84.
 20. Kiura K, Ueoka H, Segawa Y, Tabata M, Kamei H, Takigawa N, Hiraki S, Watanabe Y, Bessho A, Eguchi K, Okimoto N, Harita S, Takemoto M, Hiraki Y, Harada M, Tanimoto M; Okayama Lung Cancer Study Group. Phase I/II study of docetaxel and cisplatin with concurrent thoracic radiation therapy for locally advanced non-small-cell lung cancer. Br J Cancer. 2003;89(5):795-802.

9) 谷本光音

職歴

昭和52年3月	名古屋大学医学部卒業
昭和52年	名古屋大学医学部第一内科入局、大学院医学研究科入学
昭和53年4月	愛知県がんセンター研究所 研修生
昭和56年3月	名古屋大学大学院医学研究科満了
昭和56年10月	米国 NY 州スローンケタリングがん研究所 研究員
昭和60年11月	名古屋大学医学部附属病院 医員
昭和61年10月	名古屋拘置所医務課（法務技官）
昭和63年4月	同 医務課長
平成3年11月	名古屋大学医学部第一内科 助手
平成10年6月	名古屋大学医学部附属病院第一内科 講師
平成13年4月	岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授
平成16年4月	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

英文論文

- 1: Ennishi D, Maeda Y, Niitsu N, Kojima M, Izutsu K, Takizawa J, Kusumoto S, Okamoto M, Yokoyama M, Takamatsu Y, Sunami K, Miyata A, Murayama K, Sakai A, Matsumoto M, Shinagawa K, Takaki A, Matsuo K, Kinoshita T, Tanimoto M. Hepatic toxicity and prognosis in HCV-infected patients with diffuse large B-cell lymphoma treated with rituximab-containing chemotherapy

regimens: a Japanese

multicenter analysis. *Blood*. 2010 Sep 7. [Epub ahead of print]

2: Asakura S, Hashimoto D, Takashima S, Sugiyama H, Maeda Y, Akashi K, Tanimoto M, Teshima T. Alloantigen expression on non-hematopoietic cells reduces graft-versus-leukemia effects in mice. *J Clin Invest*. 2010 Jul 1;120(7):2370-8.

3: Segawa Y, Kiura K, Takigawa N, Kamei H, Harita S, Hiraki S, Watanabe Y, Sugimoto K, Shibayama T, Yonei T, Ueoka H, Takemoto M, Kanazawa S, Takata I, Nogami N, Hotta K, Hiraki A, Tabata M, Matsuo K, Tanimoto M. Phase III trial comparing docetaxel and cisplatin combination chemotherapy with mitomycin, vindesine, and cisplatin combination chemotherapy with concurrent thoracic radiotherapy in locally advanced non-small-cell lung cancer: OLCSG 0007. *J Clin Oncol*. 2010 Jul 10;28(20):3299-306.

4: Ennishi D, Maeda Y, Niiya M, Shinagawa K, Tanimoto M. Incidental detection of acute lymphoblastic leukemia on [18F]fluorodeoxyglucose positron emission tomography. *J Clin Oncol*. 2009 Dec 20;27(36):e269-70.

5: Koyama M, Hashimoto D, Aoyama K, Matsuoka K, Karube K, Niino H, Harada M, Tanimoto M, Akashi K, Teshima T. Plasmacytoid dendritic cells prime alloreactive T cells to mediate graft-versus-host disease as antigen-presenting cells. *Blood*. 2009 Feb 26;113(9):2088-95.

6: Aoyama K, Koyama M, Matsuoka K, Hashimoto D, Ichinohe T, Harada M, Akashi K, Tanimoto M, Teshima T. Improved outcome of allogeneic bone marrow transplantation due to breastfeeding-induced tolerance to maternal antigens. *Blood*. 2009 Feb 19;113(8):1829-33.

7: Sakoda Y, Hashimoto D, Asakura S, Takeuchi K, Harada M, Tanimoto M, Teshima T. Donor-derived thymic-dependent T cells cause chronic graft-versus-host disease. *Blood*. 2007 Feb 15;109(4):1756-64.

8: Uchida A, Matsuo K, Tanimoto M. APL during gefitinib treatment for non-small-cell lung cancer. *N Engl J Med*. 2005 Feb 24;352(8):843.

9: Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Role of adjuvant chemotherapy in patients with resected non-small-cell lung cancer: reappraisal with a meta-analysis of randomized controlled trials. *J Clin Oncol*. 2004 Oct 1;22(19):3860-7.

10: Hotta K, Matsuo K, Ueoka H, Kiura K, Tabata M, Tanimoto M. Meta-analysis of randomized clinical trials comparing Cisplatin to Carboplatin in patients with advanced non-small-cell lung cancer. *J Clin Oncol*. 2004 Oct 1;22(19):3852-9.

11: Ozawa Y, Towatari M, Tsuzuki S, Hayakawa F, Maeda T, Miyata Y, Tanimoto M, Saito H. Histone deacetylase 3 associates with and represses the transcription factor GATA-2. *Blood*. 2001 Oct 1;98(7):2116-23.

12: Kuno Y, Abe A, Emi N, Iida M, Yokozawa T, Towatari M, Tanimoto M, Saito H. Constitutive kinase activation of the TEL-Syk fusion gene in myelodysplastic syndrome with t(9;12)(q22;p12). *Blood*. 2001 Feb 15;97(4):1050-5.

13: Ohno R, Miyawaki S, Hatake K, Kuriyama K, Saito K, Kanamaru A, Kobayashi T, Kodera Y, Nishikawa K, Matsuda S, Yamada O, Omoto E, Takeyama H, Tsukuda K, Asou N, Tanimoto M,

Shiozaki H, Tomonaga M, Masaoka T, Miura Y, Takaku F, Ohashi Y, Motoyoshi K. Human urinary macrophage colony-stimulating factor reduces the incidence and duration of febrile neutropenia and shortens the period required to finish three courses of intensive consolidation therapy in acute myeloid leukemia: a double-blind controlled study. *J Clin Oncol*. 1997 Aug;15(8):2954-65.

14: Kobayashi T, Miyawaki S, Tanimoto M, Kuriyama K, Murakami H, Yoshida M, Minami S, Minato K, Tsubaki K, Ohmoto E, Oh H, Jinnai I, Sakamaki H, Hiraoka A, Kanamaru A, Takahashi I, Saito K, Naoe T, Yamada O, Asou N, Kageyama S, Emi N, Matsuoka A, Tomonaga M, Ohno R, et al. Randomized trials between behenoyl cytarabine and cytarabine in combination induction and consolidation therapy, and with or without ubenimex after maintenance/intensification therapy in adult acute myeloid leukemia. The Japan Leukemia Study Group *J Clin Oncol*. 1996Jan;14(1):204-13.

15: Abe A, Emi N, Tanimoto M, Terasaki H, Marunouchi T, Saito H. Fusion of the platelet-derived growth factor receptor beta to a novel gene CEV14 in acute myelogenous leukemia after clonal evolution. *Blood*. 1997 Dec 1;90(11):4271-7.

16: Iijima N, Miyamura K, Itou T, Tanimoto M, Sobue R, Saito H. Functional expression of Fas (CD95) in acute myeloid leukemia cells in the context of CD34 and CD38 expression: possible correlation with sensitivity to chemotherapy. *Blood*. 1997 Dec 15;90(12):4901-9.

17: Iida H, Towatari M, Tanimoto M, Morishita Y, Kadera Y, Saito H. Overexpression of cyclin E in acute myelogenous leukemia. *Blood*. 1997 Nov 1;90(9):3707-13.

18: Kanamaru A, Takemoto Y, Tanimoto M, Murakami H, Asou N, Kobayashi T, Kuriyama K, Ohmoto E, Sakamaki H, Tsubaki K, et al. All-trans retinoic acid for the treatment of newly diagnosed acute promyelocytic leukemia. Japan Adult Leukemia Study Group. *Blood*. 1995 Mar 1;85(5):1202-6.

19: Miyamura K, Tanimoto M, Morishima Y, Horibe K, Yamamoto K, Akatsuka M, Kadera Y, Kojima S, Matsuyama K, Hirabayashi N, et al. Detection of Philadelphia chromosome-positive acute lymphoblastic leukemia by polymerase chain reaction: possible eradication of minimal residual disease by marrow transplantation. *Blood*. 1992 Mar 1;79(5):1366-70.

20: Miyamura K, Morishima Y, Tanimoto M, Saito H, Kojima S, Kadera Y, Mizutani S. Prediction of clinical relapse after bone-marrow transplantation by PCR for Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukaemia. *Lancet*. 1990 Oct 6;336(8719):890.

10) 平木隆夫

職歴

平成7年3月	岡山大学医学部卒業
平成7年4月	岡山大学医学部放射線科入局、大学院医学研究科入学
平成8年7月	姫路聖マリア病院 放射線科
平成10年7月	高梁中央病院
平成13年4月	岡山大学医学部附属病院 放射線科医員
平成13年7月	津山中央病院 放射線科

平成14年5月 米国 Oregon Health & Science 大学、Dotter Interventional Institute、
Research Fellow

平成16年4月 岡山大学医学部附属病院 放射線科医員

平成18年8月 赤穂中央病院 放射線科

平成19年9月 岡山大学医学部・歯学部附属病院放射線科 助教

平成21年4月 岡山大学病院放射線科 助教

平成24年4月 岡山大学病院放射線科 講師

業績

1. Hiraki, T., Kanazawa, S., Mimura, H., Yasui, K., Tanaka, A., Dendo, S., Yoshimura, K., Hiraki, Y. : Altered hemodynamics in the liver caused by temporary occlusion of the hepatic vein: evaluation with Doppler ultrasonography in 14 patients. Radiology., 220:357-364, 2001.
2. Schoder, M., Pavcnik, D., Uchida, B.T., Corless, C., Timmermans, H.A., Yin, Q., Brountzos, E., Nakata, M., Hiraki, T., Niyyati, M., Keller, F.S., Rösch, J. : Small intestinal submucosa aneurysm sac embolization for endoleak prevention after abdominal aortic aneurysm endografting: a pilot study in sheep. J Vasc Interv Radiol., 15:69-83, 2004.
3. Pavcnik, D., Kaufman, J., Uchida, B.T., Correa, L., Hiraki, T., Kyu, S.C., Keller, F.S., Rösch, J. : Second generation percutaneous bioprosthetic venous valve: a short-term study in sheep. J Vasc Surg., 40:1223-1227, 2004.
4. Hiraki, T., Yasui, K., Mimura, H., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Tajiri, N., Naomoto, Y., Yamatsuji, T., Shirakawa, Y., Asami, S., Nakatsuka, H., Hanazaki, M., Morita, K., Tanaka, N., Kanazawa, S. : Radiofrequency ablation of mediastinal metastatic lymph nodes during cooling and temperature monitoring of the tracheal mucosa to prevent thermal tracheal damage: initial experience. Radiology., 237:1068-1074, 2005.
5. Hiraki, T., Tajiri, N., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sano, Y., Shimizu, N., Kanazawa, S. : Pneumothorax, pleural effusion and chest tube placement after radiofrequency ablation of lung tumors: incidence and risk factors. Radiology., 241:275-283, 2006.
6. Hiraki, T., Gobara, H., Sakurai, J., Mimura, H., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Yanai, H., Yoshino, T., Kanazawa, S. : Radiofrequency ablation of normal lungs after pulmonary artery embolization with use of degradable starch microspheres: results in a porcine model. J Vasc Interv Radiol., 17:1991-1998, 2006.
7. Hiraki, T., Sakurai, J., Tsuda, T., Gobara, H., Sano, Y., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Date, H., Kanazawa, S. : Risk factors for local progression after percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors: evaluation based on a preliminary review of 342 tumors. Cancer., 107:2873-2880, 2006.
8. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Yasui, K., Date, H., Kanazawa, S. : Percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors close to the heart or aorta: evaluation of safety and effectiveness. J Vasc Interv Radiol., 18: 733-740, 2007

9. Sano, Y., Kanazawa, S., Gobara, H., Mukai, T., Hiraki, T., Hase, S., Toyooka, S., Aoe, M., Date, H. : Feasibility of percutaneous radiofrequency ablation for intrathoracic malignancies: a large single-center experience. *Cancer.*,109:1397-1405, 2007
10. Hiraki, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Iguchi, T., Gobara, H., Tajiri, N., Mimura, H., Kanazawa, S.: Nonfatal systemic air embolism complicating percutaneous CT-guided transthoracic needle biopsy: four cases from a single institution. *Chest.*, 132:684-690, 2007
11. Hiraki, T., Gobara, H., Iishi, T., Sano, Y., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Date, H., Mimura, H., Kanazawa, S. : Percutaneous radiofrequency ablation for pulmonary metastases from colorectal cancer: midterm results in 27 patients. *J Vasc Interv Radiol.*, 18:1264-1269, 2007
12. Hiraki, T., Gobara, H., Iishi, T., Sano, Y., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Date, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation for clinical stage I non-small cell lung cancer: results in 20 nonsurgical candidates. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 134:1306-1312, 2007
13. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Sano, Y., Fujiwara, H., Date, H., Kanazawa, S. : Repeat radiofrequency ablation for local progression of lung tumors: does it have a role in local tumor control? *J Vasc Interv Radiol.*, 19:706-711, 2008
14. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation of lung cancer. *Lancet Oncol.*, 9:604-605, 2008
15. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Tsuda, T., Iguchi, T., Fujiwara, H., Kishi, R., Matsui, Y., Kanazawa, S. : Does tumor type affect local control by radiofrequency ablation in the lungs? *Eur J Radiol.*, 74:136-141, 2010
16. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Iguchi, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Matsui, Y., Inoue, D., Toyooka, S., Sano, Y., Kanazawa, S. : CT fluoroscopy-guided biopsy of 1000 pulmonary lesions performed with 20-gauge coaxial cutting needles: diagnostic yield and risk factors for diagnostic failure. *Chest.*,136:1612-1617, 2009
17. Mimura, H., Fujiwara, H., Hiraki, T., Gobara, H., Mukai, T., Hyodo, T., Iguchi, T., Yasui, K., Kimata, Y., Kanazawa, S.: Polidocanol sclerotherapy for painful venous malformations: evaluation of safety and efficacy in pain relief. *Eur Radiol.*, 19:2474-2480, 2009
18. Sano, Y., Date, H., Toyooka, S., Oto, T., Yamane, M., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous computed tomography-guided lung biopsy and pleural dissemination: an assessment by intraoperative pleural lavage cytology. *Cancer.*, 115:5526-5533, 2009
19. Sakurai, J., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Fujiwar, H., Tajiri, N., Sano, Y., Kanazawa, S.: Single Application of Radiofrequency Ablation of Small Lung Metastases with a 2-cm Expandable Electrode: Determination of Favorable Responders. *J Vasc Interv Radiol.*, 21:231-236, 2010
20. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Shibamoto, K., Inoue, D., Matsui, Y., Kanazawa, S.: Incidence of and risk factors for pneumothorax and chest tube placement after CT fluoroscopy-guided percutaneous lung biopsy: retrospective analysis of the procedures conducted over a 9-year period. *AJR Am J Roentgenol.*, 194:809-814, 2010

11) 郷原英夫

職歴

平成 3 年 3 月 岡山大学医学部卒業
平成 3 年 4 月 岡山大学医学部附属病院放射線科入局 大学院医学研究科入学
平成 3 年 7 月 美作中央病院
平成 5 年 7 月 国立福山病院放射線科
平成 7 年 3 月 岡山大学大学院医学研究科修了
平成 7 年 4 月 落合病院放射線科
平成 9 年 4 月 姫路聖マリア病院放射線科
平成 16 年 4 月 岡山大学医学部・歯学部附属病院放射線科 助教
平成 21 年 4 月 岡山大学病院放射線科 助教
平成 23 年 4 月 岡山大学病院放射線科 講師

業績

1. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Tajiri, N., Kanazawa, S.: Transsternal Approach for Computed Tomography-guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of a Solitary Lung Metastasis. J Vasc Interv Radiol., 17:184-185, 2006
2. Hiraki, T., Sakurai, J., Gobara, H., Kawamoto, H., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Shiratori, Y., Kanazawa, S.: Sloughing of Intraductal Tumor Thrombus of Hepatocellular Carcinoma after Transcatheter Chemoembolization Causing Obstructive Jaundice and Acute Pancreatitis. J Vasc Interv Radiol. 17:583-585, 2006
3. Hiraki, T., Sakurai, J., Tsuda, T., Gobara, H., Sano, Y., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Date, H., Kanazawa, S.: Risk factors for local progression after percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors: evaluation based on a preliminary review of 342 tumors. Cancer., 107:2873-2880, 2006
4. Mukai, T., Sato, S., Iguchi, T., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Saika, T., Nasu, Y., Kumon, H., Kanazawa, S.: Effects of Radiofrequency Ablation on Individual Renal Function: Assessment by Technetium-99m Mercaptoacetyl triglycine Renal Scintigraphy. Acta Med Okayama., 60:85-91, 2006
5. Hiraki, T., Gobara, H., Takemoto, M., Mimura, H., Mukai, T., Himeji, K., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Yagi, T., Tanaka, N., Kanazawa, S.: Percutaneous Radiofrequency Ablation Combined with Previous Bronchial Arterial Chemoembolization and Followed by Radiation Therapy for Pulmonary Metastasis from Hepatocellular Carcinoma. J Vasc Interv Radiol., 17:1189-1193, 2006
6. Hiraki, T., Tajiri, N., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sano, Y., Shimizu, N., Kanazawa, S.: Pneumothorax, Pleural Effusion and Chest Tube Placement after Radiofrequency Ablation of Lung Tumors: Incidence and Risk Factors. Radiology., 241: 275-283, 2006

7. Hiraki, T., Gobara, H., Sakurai, J., Mimura, H., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Yanai, H., Yoshino, T., Kanazawa, S.: Radiofrequency Ablation of Normal Lungs after Pulmonary Artery Embolization with Use of Degradable Starch Microspheres: Results in a Porcine Model. *J Vasc Inter Radiol.*, 17:1991-1998, 2006
8. Sakurai, J., Hiraki, T., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Tajiri, N., Aoe, M., Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.: Intractable Pneumothorax Due to Bronchopleural Fistula after Radiofrequency Ablation of Lung Tumors. *J Vasc Interv Radiol.*, 18:141-145, 2007
9. Sano, Y., Kanazawa, S., Gobara, H., Mukai, T., Hiraki, T., Hase, S., Toyooka, S., Aoe M., Date, H.: Feasibility of Percutaneous Radiofrequency Ablation for Intrathoracic Malignancies. A Large Single-Center Experience. *CANCER* 109:1397-1405, 2007
10. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Yasui, K., Date, H., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors close to the heart or aorta: evaluation of safety and effectiveness. *J Vasc Interv Radiol.* 18:733-740, 2007
11. Mukai, T., Mimura, H., Gobara, H., Takemoto, M., Himei, K., Hiraki, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Tajiri, N., Sakurai, J., Yasui, K., Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.: Radiofrequency Ablation Followed by Radiation Therapy for Large Primary Lung Tumors. *Acta Med Okayama.* 61:177-180, 2007
12. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Mimura, H., Saika, T., Kumon, H., Kanazawa, S.: Transhepatic Approach for Percutaneous Computed-Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Renal Cell Carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 30:765-769, 2007
13. Hiraki, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Iguchi, T., Gobara, H., Tajiri, N., Mimura, H., Kanazawa, S.: Nonfatal Systemic Air Embolism Complicating Percutaneous CT-Guided Transthoracic Needle Biopsy: Four Cases From a Single Institution. *CHEST.*, 132(2):684-690, 2007
14. Hiraki, T., Gobara, H., Iishi T, Sano, Y., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Date, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous Radiofrequency Ablation for Pulmonary Metastases from Colorectal Cancer: Midterm Results in 27 Patients. *J Vasc Interv Radiol.*, 18:1264-1269, 2007
15. Hiraki, T., Gobara, H., Iishi T, Sano, Y., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Date, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation for clinical stage I non-small cell lung cancer: Results in nonsurgical candidates. *J Thorac Cardiovasc Surg.*, 134:1306-1312, 2007
16. Tajiri, N., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sakurai, J., Aoe M, Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.: Measurement of Pleural Temperature During Radiofrequency Ablation of Lung Tumors to Investigate Its Relationship to Occurrence of Pneumothorax or Pleural Effusion. *Cardiovasc Intervent Radiol.*, 31:581-586, 2008
17. Sano, Y., Kanazawa, S., Mimura, H., Gobara, H., Hiraki, T., Fujiwara, H., Yamane, M., Toyooka, S., Oto, T., Date, H.: A Novel Strategy for Treatment of Metastatic Pulmonary Tumors: Radiofrequency Ablation in Conjunction with Surgery. *J Thorac Oncol.* ,3:283-288, 2008

18. Iguchi, T., Yasui, K., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sato, S., Fujiwara, H., Yano, A., Doihara, H., Kanazawa, S.:Radiofrequency Ablation of Functioning Lung Metastases from Parathyroid Carcinoma. *J Vasc Interv Radiol.*,19:462-464,2008
19. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Sano, Y., Fujiwara, H., Date, H., Kanazawa, S.:Repeat radiofrequency ablation for local progression of lung tumors: does it have a role in local tumor control? *J Vasc Interv Radiol.*, 19:706-711, 2008
20. Otani H, Toyooka, S, Soh, J., Yamamoto, H., Suehisa, H., Kobayashi, N., Gobara, H., Mimura, H., Kiura, K., Sano, Y., Kanazawa, S., Date, H.:Detection of EGFR gene mutations using the wash fluid of CT-guided biopsy needle in NSCLC patients. *J Thorac Oncol.*, 3:472-476, 2008
21. Hiraki,T.,Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Kanazawa, S.:Percutaneous radiofrequency ablation of lung cancer. *Lancet Oncol.*, 9:604-605, 2008
22. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Sano, Y., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sakurai,J., Kishi, R., Kanazawa, S.:Two Cases of Needle-Tract Seeding after Percutaneous Radiofrequency Ablation for Lung Cancer. *J Vasc Interv Radiol.*,20:415-418, 2009
23. Iishi, T., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Kurose,T., Fujiwara, H., Sakurai, J.,Yanai,H., Yoshino, T., Kanazawa, S.:Infusion of hypertonic saline into the lung parenchma during radiofrequency ablation of the lungs with multitined expandable electrodes: results using a porcine model. *Acta Med Okayama.*, 63:137-144, 2009
24. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sakurai, J., Norikane S, Kato K, Kanazawa, S.:Pulmonary Edema as a Complication of Transcatheter Embolization of Renal Angiomyolipoma in a Patient with Pulmonary Lymphangioleiomyomatosis Due to Tuberous Sclerosis Complex. *J Vasc Interv Radiol.*20:819-823, 2009
25. Miyoshi, K., Toyooka, S, Gobara, H., Oto, T., Mimura, H., Sano, Y., Kanazawa, S., Date, H.:Clinical outcomes of short hook wire and suture marking system in thoracoscopic resection for pulmonary nodules. *Eur. J. Cardio-Thorac. Surg.*,36:378-382, 2009
26. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Yagi T, Sano, Y., Tanaka N, Kanazawa, S.:Long-term survival after radiofrequency ablation for pulmonary metastasis from hepatocellular carcinoma: report of two cases. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:1106-1107, 2009
27. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Iguchi, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Matsui, Y., Inoue, D., Toyooka, S, Sano, Y., Kanazawa, S.:CT Fluoroscopy-Guided Biopsy of 1,000 Pulmonary Lesions Performed With 20-Gauge Coaxial Cutting Needles: Diagnostic Yield and Risk Factors for Diagnostic Failure. *Chest.*, 136:1612-1617, 2009
28. Fujiwara, H., Gobara, H., Mimura, H., Hiraki, T., Iguchi, T., Kanazawa, S.:Sclerotherapy for peribiliary cysts accompanied by biliary stenosis.: *J Vasc Interv Radiol.* 20:1644-1645, 2009
29. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Takigawa, N., Tanaka, T., Kanazawa, S.: Aspergilloma in a cavity formed after percutaneous radiofrequency ablation for lung cancer. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:1499-1500, 2009
30. Sano, Y., Date, H., Toyooka, S, Oto, T., Yamane, M., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H.,

- Kanazawa, S.:Percutaneous computed tomography-guided lung biopsy and pleural dissemination: an assessment by intraoperative pleural lavage cytology. Cancer.,115:5526-5533, 2009
31. Hiraki, T.,Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Tsuda, T., Iguchi, T., Fujiwara, H., Kishi, R., Matsui, Y., Kanazawa, S.:Does tumor type affect local control by radiofrequency ablation in the lungs? Eur J Radiol.,74 : 136-141, 2010
 32. Sakurai, J., Mimura, H.,Gobara, H., Hiraki, T., Kanazawa, S.:Pulmonary Artery Pseudoaneurysm Related to Radiofrequency Ablation of Lung Tumor. Cardiovasc Intervent Radiol., 33 : 413-416, 2010
 33. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Shibamoto, K., Inoue, D., Matsui, Y., Kanazawa, S.:Incidence of and risk factors for pneumothorax and chest tube placement after CT fluoroscopy-guided percutaneous lung biopsy: retrospective analysis of the procedures conducted over a 9-year period. AJR Am J Roentgenol.,194:809-814,2010
 34. Sakurai, J., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Fujiwar H, Tajiri, N., Sano, Y., Kanazawa, S.:Single Application of Radiofrequency Ablation of Small Lung Metastases with a 2-cm Expandable Electrode: Determination of Favorable Responders. J Vasc Interv Radiol.,21 : 231-236, 2010
 35. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Toyooka, S, Shibamoto, K., Kishi, R., Uka, M., Kanazawa, S.:Brachial nerve injury caused by percutaneous radiofrequency ablation of apical lung cancer: a report of four cases. J Vasc Interv Radiol.,21 : 1129-1133, 2010
 36. Hiraki, T., Inai, R., Mimura, H., Gobara, H., Shibamoto, K., Kishi, R., Uka, M., Kanazawa, S.:Pneumopericardium as a complication of CT-guided lung biopsy. J Vasc Interv Radiol., 21 : 1136-1138, 2010

12) 金澤 右

職歴

昭和56年3月	岡山大学医学部卒
昭和56年4月	愛知県がんセンター病院放射線診断部
昭和61年3月	医学博士取得
昭和61年4月	倉敷成人病センター放射線科
平成元年12月	米国テキサス大学MD アンダーソン癌センター
平成3年1月	岡山大学医学部附属病院放射線科
平成4年4月	岡山大学医学部附属病院放射線科 助手
平成10年4月	岡山大学医学部附属病院中央放射線部 副部長・講師
平成13年4月	岡山大学大学院医歯学総合研究科 助教授
平成16年4月	岡山大学大学院医歯学総合研究科 教授
平成17年4月	岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 教授

業績

1. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Tajiri, N., Kanazawa, S.:Transsternal Approach for Computed

Tomography-guided Percutaneous Radiofrequency Ablation of a Solitary Lung Metastasis., J Vasc Interv Radiol., 1:184-185, 2006

2. Hiraki, T., Sakurai, J., Tsuda, T., Gobara, H., Sano, Y., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Date, H., Kanazawa, S.:Risk factors for local progression after percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors: evaluation based on a preliminary review of 342 tumors. , Cancer 107:2873-2880, 2006
3. Iguchi, T., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Saika, T., Nasu, Y., Kumon, H., Kanazawa, S.:Effects of Radiofrequency Ablation on Individual Renal Function: Assessment by Technetium-99m Mercaptoacetyltriglycine Renal Scintigraphy. Mukai, T., Sato, S., Acta Med Okayama., 60:85-91, 2006
4. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kanazawa, S., Ohtani, S., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Sato, T., Eto, Y., Sunil Chada, Nakamura, H., Kato, H.:Multicenter Phase I Study of Repeated Intratumoral Delivery of Adenoviral p53 in Patients With Advanced Non-Small-Cell Lung Cancer., J Clin Oncol., 24:1689-1699, 2006
5. Hiraki, T., Gobara, H., Takemoto, M., Mimura, H., Mukai, T., Himei, K., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Yagi, T., Tanaka, N., Kanazawa, S. :Percutaneous Radiofrequency Ablation Combined with Previous Bronchial Arterial Chemoembolization and Followed by Radiation Therapy for Pulmonary Metastasis from Hepatocellular Carcinoma., J Vasc Interv Radiol., 17:1189-1193, 2006
6. Hiraki, T., Tajiri, N., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sano, Y., Shimizu N, Kanazawa, S.:Pneumothorax, Pleural Effusion and Chest Tube Placement after Radiofrequency Ablation of Lung Tumors: Incidence and Risk Factors., Radiology., 241:275-283, 2006
7. Hiraki, T., Gobara, H., Sakurai, J., Mimura, H., Mukai, T., Hase, S., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Yanai, H., Yoshino, T., Kanazawa, S.:Radiofrequency Ablation of Normal Lungs after Pulmonary Artery Embolization with Use of Degradable Starch Microspheres: Results in a Porcine Model., J Vasc Interv Radiol. , 17:1991-1998, 2006
8. Sakurai, J., Hiraki, T., Mimura, H., Yasui, K., Gobara, H., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Tajiri, N., Aoe, M., Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.:Intractable Pneumothorax Due to Bronchopleural Fistula after Radiofrequency Ablation of Lung Tumors. J Vasc Interv Radiol., 18:141-145, 2007
9. Yamakado, K., Hase, S., Matsuoka, T., Tanigawa, N., Nakatsuka, A., Takaki, H., Takao, M., Inoue, Y., Kanazawa, S., Inoue, Y., Sawada, S., Kusunoki, M., Takeda, K.:Radiofrequency Ablation for the Treatment of Unresectable Lung Metastases in Patients with Colorectal Cancer: A Multicenter Study in Japan., J Vasc Interv Radiol., 18:393-398, 2007
10. Sano, Y., Kanazawa, S., Gobara, H., Mukai, T., Hiraki, T., Hase, S., Toyooka,

- S., Aoe, M., Date, H.: Feasibility of Percutaneous Radiofrequency Ablation for Intrathoracic Malignancies. A Large Single-Center Experience. *CANCER*, 109:1397-1405, 2007
11. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Yasui, K., Date, H., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation of lung tumors close to the heart or aorta: evaluation of safety and effectiveness. *J Vasc Interv Radiol.*, 18:733-740, 2007
 12. Mukai, T., Mimura, H., Gobara, H., Takemoto, M., Himei, K., Hiraki, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Tajiri, N., Sakurai, J., Yasui, K., Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.: Radiofrequency Ablation Followed by Radiation Therapy for Large Primary Lung Tumors. *Acta Med Okayama.*, 61:177-180, 2007
 13. Iguchi, T., Hiraki, T., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Mimura, H., Saika, T., Kumon, H., Kanazawa, S.: Transhepatic Approach for Percutaneous Computed-Tomography-Guided Radiofrequency Ablation of Renal Cell Carcinoma. *Cardiovasc Intervent Radiol.*, 30:765-769, 2007
 14. Hiraki, T., Gobara, H., Iishi, T., Sano, Y., Iguchi, T., Fujiwara, H., Tajiri, N., Sakurai, J., Date, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous Radiofrequency Ablation for Pulmonary Metastases from Colorectal Cancer: Midterm Results in 27 Patients. *J Vasc Interv Radiol.*, 18:1264-1269, 2007
 15. Tajiri, N., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Mukai, T., Hase, S., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sakurai, J., Aoe, M., Sano, Y., Date, H., Kanazawa, S.: Measurement of Pleural Temperature During Radiofrequency Ablation of Lung Tumors to Investigate Its Relationship to Occurrence of Pneumothorax or Pleural Effusion. *Cardiovasc Intervent Radiol.*, 31:581-586, 2008
 16. Sano, Y., Kanazawa, S., Mimura, H., Gobara, H., Hiraki, T., Fujiwara, H., Yamane, M., Toyooka, S., Oto, T., Date, H.: A Novel Strategy for Treatment of Metastatic Pulmonary Tumors: Radiofrequency Ablation in Conjunction with Surgery. *J Thorac Oncol.*, 3:283-288, 2008
 17. Iguchi, T., Yasui, K., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sato, S., Fujiwara, H., Yano, A., Doihara, H., Kanazawa, S.: Radiofrequency Ablation of Functioning Lung Metastases from Parathyroid Carcinoma. *J Vasc Interv Radiol.*, 19:462-464, 2008
 18. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Sano, Y., Fujiwara, H., Date, H., Kanazawa, S.: Repeat radiofrequency ablation for local progression of lung tumors: does it have a role in local tumor control? *J Vasc Interv Radiol.*, 19:706-711, 2008
 19. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Kanazawa, S.: Percutaneous radiofrequency ablation of lung cancer. *Lancet Oncol.*, 9:604-605, 2008
 20. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Sano, Y., Fujiwara, H., Iguchi, T., Sakurai, J., Kishi, R., Kanazawa, S.: Two Cases of Needle-Tract Seeding after

- Percutaneous Radiofrequency Ablation for Lung Cancer. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:415-418, 2009
21. Iishi, T., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Kurose, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Yanai, H., Yoshino, T., Kanazawa, S.: Infusion of hypertonic saline into the lung parenchyma during radiofrequency ablation of the lungs with multitined expandable electrodes: results using a porcine model. *Acta Med Okayama.*, 63:137-144, 2009
 22. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Yagi, T., Sano, Y., Tanaka, N., Kanazawa, S.: Long-term survival after radiofrequency ablation for pulmonary metastasis from hepatocellular carcinoma: report of two cases. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:1106-1107, 2009
 23. Soga, N., Yamakado, K., Gobara, H., Takaki, H., Hiraki, T., Yamada, T., Arima, K., Takeda, K., Kanazawa, S., Sugimura, Y.: Percutaneous radiofrequency ablation for unresectable pulmonary metastases from renal cell carcinoma. *BJU Int.*, 104:790-794, 2009
 24. Iguchi, T., Yoshioka, T., Muro, M., Miyasho, K., Inoue, D., Hiraki, T., Kanazawa, S.: Systemic air embolism during preoperative pulmonary marking with a short hook wire and suture system under CT fluoroscopy guidance. *Jpn J Radiol.*, 27:385-388, 2009
 25. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Iguchi, T., Fujiwara, H., Sakurai, J., Matsui Y., Inoue, D., Toyooka, S., Sano, Y., Kanazawa, S.: CT Fluoroscopy-Guided Biopsy of 1,000 Pulmonary Lesions Performed With 20-Gauge Coaxial Cutting Needles: Diagnostic Yield and Risk Factors for Diagnostic Failure. *Chest.*, 136:1612-1617, 2009
 26. Fujiwara, H., Gobara, H., Mimura, H., Hiraki, T., Iguchi, T., Kanazawa, S.: Sclerotherapy for peribiliary cysts accompanied by biliary stenosis. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:1644-1645, 2009
 27. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Takigawa, N., Tanaka, T., Kanazawa, S.: Aspergilloma in a cavity formed after percutaneous radiofrequency ablation for lung cancer. *J Vasc Interv Radiol.*, 20:1499-1500, 2009
 28. Sano, Y., Date, H., Toyooka, S., Oto, T., Yamane, M., Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Kanazawa, S.: Percutaneous computed tomography-guided lung biopsy and pleural dissemination: an assessment by intraoperative pleural lavage cytology. *Cancer.*, 115:5526-5533, 2009
 29. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Tsuda, T., Iguchi, T., Fujiwara, H., Kishi, R., Matsui, Y., Kanazawa, S.: Does tumor type affect local control by radiofrequency ablation in the lungs? *Eur J Radiol.*, 74:136-141, 2010
 30. Nakamura, K., Kodama, J., Okumura, Y., Hongo, A., Kanazawa, S., Hiramatsu, Y.: The SUVmax of 18F-FDG PET Correlates With Histological Grade in Endometrial Cancer.

Int J Gynecol Cancer., 20:110-115, 2010

31. Iguchi, T., Yabushita, K., Sakaguchi, K., Hosoya, T., Inoue, D., Mimura, H., Kanazawa, S.:Percutaneous transhepatic sclerotherapy for bleeding ileal varices associated with portal hypertension and previous abdominal surgery. Jpn J Radiol., 28:169-172, 2010
32. Sakurai, J., Akaki, S., Yonezawa, M., Horiguchi, I., Nakamura, S., Kanazawa, S.:Intrapelvic Chronic Expanding Hematoma: Magnetic Resonance Imaging Findings with Pathological Correlation. Magn Reson Med Sci., 9:81-84, 2010
33. Sakurai, J., Mimura, H., Gobara, H., Hiraki, T., Kanazawa, S.:Pulmonary Artery Pseudoaneurysm Related to Radiofrequency Ablation of Lung Tumor. Cardiovasc Intervent Radiol., 33:413-416, 2010
34. Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Shibamoto, K., Inoue, D., Matsui, Y., Kanazawa, S.:Incidence of and risk factors for pneumothorax and chest tube placement after CT fluoroscopy-guided percutaneous lung biopsy: retrospective analysis of the procedures conducted over a 9-year period. AJR Am J Roentgenol., 194:809-814, 2010
35. Sakurai, J., Hiraki, T., Mimura, H., Gobara, H., Fujiwar, H., Tajiri, N., Sano, Y., Kanazawa, S.:Single Application of Radiofrequency Ablation of Small Lung Metastases with a 2-cm Expandable Electrode: Determination of Favorable Responders. J Vasc Interv Radiol., 21:231-236, 2010
36. Hiraki, T., Gobara, H., Mimura, H., Sano, Y., Toyooka, S., Shibamoto, K., Kishi, R., Uka, M., Kanazawa, S.:Brachial nerve injury caused by percutaneous radiofrequency ablation of apical lung cancer: a report of four cases. J Vasc Interv Radiol., 21:1129-1133, 2010
37. Hiraki, T., Inai, R., Mimura, H., Gobara, H., Shibamoto, K., Kishi, R., Uka, M., Kanazawa, S.:Pneumopericardium as a complication of CT-guided lung biopsy. J Vasc Interv Radiol., 21:1136-1138, 2010
38. Iguchi, T., Ogawa, K., Doi, T., Miyasho, K., Munetomo, K., Hiraki, T., Ozaki, T., Kanazawa, S.:Computed tomography fluoroscopy-guided placement of iliosacral screws in patients with unstable posterior pelvic fractures. Skeletal Radiol., 39:701-705, 2010
39. Nakamura, K., Okumura, Y., Kodama, J., Hongo, A., Kanazawa, S., Hiramatsu, Y.:The predictive value of measurement of SUVmax and SCC-antigen in patients with pretreatment of primary squamous cell carcinoma of cervix. Gynecol Oncol., 119:81-86, 2010

13) 渡部昌実

職歴

平成8年3月

岡山大学医学部卒業

平成8年4月 岡山大学大学院医学研究科（泌尿器科学専攻）入学
 平成12年3月 岡山大学大学院医学研究科（泌尿器科学専攻）修了
 平成12年4月 岡山大学医学部附属病院 泌尿器科 医員
 平成12年12月 高知県立中央病院泌尿器科
 平成13年4月 岡山中央病院泌尿器科 医師
 平成15年4月 岡山大学医学部附属病院泌尿器科 医員
 平成15年10月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 泌尿器科 医員
 平成16年12月 Baylor College of Medicine, Scott department of Urology,
 Research Associate
 平成18年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 助手
 平成19年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 助教
 平成21年4月 岡山大学病院 泌尿器科 助教
 平成22年4月 岡山大学病院 遺伝子・細胞治療センター 准教授
 平成23年10月 岡山大学病院 新医療研究開発センター 准教授

業績

1. Thompson TC, Tahir SA, Li L, Watanabe M, Naruishi K, Yang G, Kadmon D, Logothetis CJ, Troncoso P, Ren C, Goltsov A, Park S. The role of caveolin-1 in prostate cancer: clinical implications. *Prostate Cancer Prostatic Dis.*, 13(1):6-11, 2010
2. Watanabe M, Yang G, Cao G, Tahir SA, Naruishi K, Tabata K, Fattah EA, Rajagopalan K, Timme TL, Park S, Kurosaka S, Edamura K, Tanimoto R, Demayo FJ, Goltsov AA, Thompson TC. Functional analysis of secreted caveolin-1 in mouse models of prostate cancer progression. *Mol Cancer Res.*, 7(9):1446-55, 2009
3. Sakaguchi M, Kataoka K, Abarzua F, Tanimoto R, Watanabe M, Murata H, Than SS, Kurose K, Kashiwakura Y, Ochiai K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Overexpression of REIC/Dkk-3 in normal fibroblasts suppresses tumor growth via induction of IL-7. *J Biol Chem.*, 284(21):14236-44, 2009
4. Watanabe M, Kashiwakura Y, Huang P, Ochiai K, Futami J, Li SA, Takaoka M, Nasu Y, Sakaguchi M, Huh NH, Kumon H. Immunological aspects of REIC/Dkk-3 in monocyte differentiation and tumor regression. *Int J Oncol.*, 34(3):657-63, 2009
5. Otsuka A, Abe T, Watanabe M, Yagisawa H, Takei K, Yamada H. Dynamin 2 is required for actin assembly in phagocytosis in Sertoli cells. *Biochem Biophys Res Commun.*, 378(3):478-82, 2009
6. Kawasaki K, Watanabe M, Sakaguchi M, Ogasawara Y, Ochiai K, Nasu Y, Doihara H, Kashiwakura Y, Huh NH, Kumon H, Date H. REIC/Dkk-3 overexpression downregulates P-glycoprotein in multidrug-resistant MCF7/ADR cells and induces apoptosis in breast cancer. *Cancer Gene Ther.*, 16(1):65-72., 2009
7. Tabata K, Watanabe M, Naruishi K, Edamura K, Satoh T, Yang G, Abdel Fattah E, Wang J, Goltsov A, Floryk D, Soni SD, Kadmon D, Thompson TC. Therapeutic effects of gelatin matrix-embedded IL-12 gene-modified macrophages in a mouse model of residual

- prostate cancer. Prostate Cancer Prostatic Dis., 12(3):301-9, 2009
8. Nakanishi A, Abe T, Watanabe M, Takei K, Yamada H. Dynamin 2 cooperates with amphiphysin 1 in phagocytosis in sertoli cells. Acta Med Okayama., 62(6):385-91, 2008
 9. Kashiwakura Y, Ochiai K, Watanabe M, Abarzua F, Sakaguchi M, Takaoka M, Tanimoto R, Nasu Y, Huh NH, Kumon H. Down-regulation of inhibition of differentiation-1 via activation of activating transcription factor 3 and Smad regulates REIC/Dickkopf-3-induced apoptosis. Cancer Res., 68(20):8333-41, 2008
 10. Abarzua F, Kashiwakura Y, Takaoka M, Watanabe M, Ochiai K, Sakaguchi M, Iwawaki T, Tanimoto R, Nasu Y, Huh NH, Kumon H. An N-terminal 78 amino acid truncation of REIC/Dkk-3 effectively induces apoptosis. Biochem Biophys Res Commun., 375(4):614-8, 2008
 11. Huang P, Watanabe M, Kaku H, Kashiwakura Y, Chen J, Saika T, Nasu Y, Fujiwara T, Urata Y, Kumon H. Direct and distant antitumor effects of a telomerase-selective oncolytic adenoviral agent, OBP-301, in a mouse prostate cancer model. Cancer Gene Ther., 15(5):315-22, 2008
 12. Tahir SA, Yang G, Goltsov AA, Watanabe M, Tabata K, Addai J, Fattah el MA, Kadmon D, Thompson TC. Tumor cell-secreted caveolin-1 has proangiogenic activities in prostate cancer. Cancer Res., 68(3):731-9, 2008

14) 那須保友

職歴

昭和56年3月 岡山大学医学部卒業
 昭和61年3月 岡山大学大学院医学研究科卒業
 昭和61年4月 岡山大学医学部附属病院 医員
 平成3年4月 岡山大学医学部附属病院 講師
 平成8年6月～平成9年3月 文部省長期在外研究員
 (米国テキサス州ベイラー医科大学泌尿器科)
 平成9年5月～平成10年7月 米国テキサス州ベイラー医科大学泌尿器科・客員研究員
 平成15年10月 岡山大学医学部・歯学部附属病院 講師
 平成16年4月 岡山大学大学院医歯学総合研究科 泌尿器病態学 助教授
 平成17年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学 助教授
 平成19年4月 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 泌尿器病態学 准教授
 平成22年1月 岡山大学病院 新医療研究開発センター 教授

業績

1. Sakaguchi M, Kataoka K, Abarzua F, Tanimoto R, Watanabe M, Murata H, Than SS, Kurose K, Kashiwakura Y, Ochiai K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Overexpression of REIC/Dkk-3 in normal fibroblasts suppresses tumor growth via induction of IL-7. J. Biol. Chem., 284(21):14236-44, 2009

2. Kobayashi T, Sakaguchi M, Tanimoto R, Abarzua F, Takaishi M, Kaku H, Kataoka K, Saika T, Nasu Y, Miyazaki M, Kumon H, Huh NH. Mechanistic analysis of resistance to REIC/Dkk-3-induced apoptosis in human bladder cancer cells. *Acta Med. Okayama*, 62 (6) :393-401, 2008
3. Edamura K, Nasu Y, Takaishi M, Kobayashi T, Abarzua F, Sakaguchi M, Kashiwakura Y, Ebara S, Saika T, Watanabe M, Huh NH, Kumon H. Adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene transfer inhibits tumor growth and metastasis in an orthotopic prostate cancer model. *Cancer Gene Ther*, 14 (9) :765-72, 2007
4. Abarzua F, Sakaguchi M, Tanimoto R, Sonogawa H, Li DW, Edamura K, Kobayashi T, Watanabe M, Kashiwakura Y, Kaku H, Saika T, Nakamura K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. Heat shock proteins play a crucial role in tumor-specific apoptosis by REIC/Dkk-3. *Int J Mol Med*, 20 (1) :37-43, 2007
5. Nasu Y, Saika T, Ebara S, Kusaka N, Kaku H, Abarzua F, Manabe D, Thompson TC, Kumon H. Suicide gene therapy with adenoviral delivery of HSV-tK gene for patients with local recurrence of prostate cancer after hormonal therapy. *Mol Ther*, 15 (4) :834-40, 2007
6. Tanimoto R, Abarzua F, Sakaguchi M, Takaishi M, Nasu Y, Kumon H, Huh NH. REIC/Dkk-3 as a potential gene therapeutic agent against human testicular cancer. *Int J Mol Med*, 19 (3) :363-8, 2007
7. Kaku H, Saika T, Tsushima T, Ebara S, Senoh T, Yamato T, Nasu Y, Kumon H. :Time course of serum testosterone and luteinizing hormone levels after cessation of long-term luteinizing hormone-releasing hormone agonist treatment in patients with prostate cancer. *The Prostate*, 66:439-444, 2006
8. Nakamura K, Nasu Y, Hongo A, Matsuo T, Kodama J, Ebara S, Nagai A, Abarzua F, Kumon H, Hiramatsu Y. :Hepsin shows inhibitory effects through apoptotic pathway on ovarian cancer cell lines. *International Journal of Oncology*, 28:393-8, 2006
9. 那須保友, 公文裕巳 : 前立腺癌の遺伝子治療. *日本臨床*, 63:335-338, 2005
10. Koizumi F, Noguchi Y, Saika T, Nakagawa K, Sato S, Eldib A. M. A., Nasu Y, Kumon H, Nakayama E. :XAGE-1 mRNA expression in prostate cancer and antibody response in patients. *Microbiol Immunol*, 49:471-476, 2005
11. Watanabe M, Nasu Y, Kashiwakura Y, Kusumi N, Tamayose K, Nagai A, Sasano T, Shimada T, Daida H, Kumon H. :Adeno-Associated Virus 2-Mediated intratumoral prostate cancer gene therapy:Long-term maspin expression efficiently suppresses tumor growth. *Human Gene Therapy*, 16:699-710, 2005
12. Watanabe M, Kashiwakura Y, Kusumi N, Tamayose K, Nasu Y, Nagai A, Shimada T, Daida H, Kumon H. :Adeno-associated virus-mediated human IL-10 gene transfer suppresses the development of experimental autoimmune orchitis. *Gene Therapy*, 12:1126-1132, 2005

13. Edamura K., Saika T., Senoh T., Koizumi F., Manabe D., Ebara S., Kaku H., Yokoyama T., Abarzua F., Nagai A., Nasu Y., Tsushima T., Kumon H. :Long-term clinical outcomes of 420 consecutive prostate cancer patients in a single institute. *Acta Med Okayama*, 59:195-199, 2005
14. Abarzua F., Sakaguchi M., Takaishi M., Nasu Y., Kurose K., Ebara S., Miyazaki M., Namba M., Kumon H., Huh Nam-ho :Adenovirus-mediated overexpression of REIC / Dkk-3 selectively induces apoptosis in human prostate cancer cells through activation of c-Jun-NH2-Kinase. *Cancer Research*, 65 :9617-9622, 2005
15. Kurose K., Sakaguchi M., Nasu Y., Ebara S., Kaku H., Kariyama R., Arao Y., Miyazaki M., Tsushima T., Namba M., Kumon H., Huh N. : Decreased expression of REIC/Dkk-3 in human renal clear cell carcinoma. *J Urol*, 171:1314-1318, 2004
16. Miyaji Y., Saika T., Yamamoto Y., Kusaka N., Arata R., Ebara S., Nasu Y., Tsushima T., Kumon H. : Effect of gonadotropin-releasing hormone agonists on bone metabolism markers and bone mineral density in patients with prostate cancer. *Urology*, 64:128-131, 2004
17. 那須保友, 江原 伸, 公文裕巳 :Interleukin-12 による前立腺癌に対する新しい遺伝子治療の試み. *日本臨床*, 62:1181-1191, 2004
18. Nakada T., Noguchi Y., Satoh S., Ono T., Saika T., Kurashige T., Gnjjatic S., Ritter G., Chen Y-T., Stockert E., Nasu Y., Tsushima T., Kumon H., Old LJ., Nakayama E. : NY-ESO-1 mRNA expression and immunogenicity in advanced prostate cancer. *Cancer Immunity*, 3:10-21, 2003
19. 那須保友, 公文裕巳:前立腺癌遺伝子治療の現状と展望., *岡山医学会雑誌*, 114:173-177, 2002
20. Nasu Y., Bangma CH., Hull GW., Yang G., Wang J., Shimura S., McCurdy MA., Ebara S., Lee HM., Timme TL., Thompson TC. :Combination gene therapy with adenoviral vector-mediated HSV-tk+GCV and IL-12 in an orthotopic mouse model for prostate cancer. *Prostate Cancer Prostatic Dis*, 4:44-55, 2001
21. Nasu Y., Kusaka N., Saika T., Tsushima T., Kumon H. : Suicide gene therapy for urogenital cancer -current outcome and future prospect-. *Molecular Urology*, 4:67-71, 2000
22. Nasu Y., Bangma CH., Hull GW., Lee H-M., Hu 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 Therapy*, 6: 338-349, 1999
23. Nasu Y., Timme TL., Yang G., Bangma CH., Li L., Ren C., Park SH., Deleon M., Thompson TC. : Suppression of caveolin induces androgen sensitivity in metastatic androgen insensitive mouse prostate cancer cells. *Nature Medicine*, 4:1062-1064, 1998

11-2. 実施施設の施設設備の状況

岡山大学医学部呼吸器・乳腺内分泌外科学教室では、日常的に各種がん細胞や正常細胞の組織培養が行われており、プラスチック器具（ディスポーザブル）や各種培養液は常備され、クリーンベンチやCO₂培養器の設備も整っている。

切除標本や生検材料のHE染色、免疫組織学的染色並びにTUNEL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たんぱく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REIC/Dkk-3 アデノウイルスベクターに関しては、岡山大学病院新医療研究開発センター・探索的医薬品開発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、ウイルス力価の測定、さらにREIC/Dkk-3の生物学的活性を確かめるための腫瘍細胞特異的アポトーシス誘導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、この点は製造元の米国ベイラー医科大学により十分な管理が行われる。CTガイド下の穿刺についても、治療、検査目的にて日常的に施行しており、CTガイド下のベクター注入に関しては、岡山大学病院新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室における実施経験がある。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東病棟8階の個室にて管理される。万一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える。

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. REIC/Dkk-3 遺伝子治療に関して

1) 国内の状況

岡山大学は前立腺癌を対象とした臨床研究を二つの病態群を対象として実施中である。カテゴリーA：内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん、カテゴリーB：外科的切除の適応のあるハイリスク初発限局性前立腺がん（ネオアジュバント投与）

当該臨床研究は平成22年12月22日厚生科学審議会科学技術部会において承認（平成23年1月6日付け 厚生労働大臣意見書発出）されており、平成23年1月25日第一例目を実施した。平成25年7月現在までに計20症例（A群6例及びB群14例）で治療が実施され、主要エンドポイントであるAd-REICを用いた遺伝子治療臨床研究の安全性については、現時点での確認が為された状況にある。

2) 国外の状況

桃太郎源株式会社は、米国での臨床研究実施を計画しFDAとの事前協議（平成20年11

月)、Pre-preIND 会議(平成 21 年 1 月)、ワシントン DC での Pre-IND 会議(平成 21 年)を実施し、平成 22 年 3 月 1 日に Ad-REIC 製剤を、米国 FDA に IND (Investigational New Drug) 申請、NIH の RAC (Recombinant DNA Advisory Committee・平成 22 年 3 月)公聴会を通過、平成 22 年 3 月 31 日付けで IND を通過した。ニューヨークマウントサイナイ病院での「再発高リスク限局性前立腺がんを対象とする術前治療」ネオアジュバント遺伝子治療として実施する予定である。

11-3-2. 悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療について

1) 国内の状況

申請書提出時点(平成 25 年 8 月)では悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療は本邦では実施されていない。

しかし千葉大学において「切除不能悪性胸膜中皮腫を対象とした NK4 遺伝子発現型アデノウイルスベクターによる第 I 相臨床研究」が予定されておりすでに実施に係る審査は終了し厚生科学会議科学技術部会において実施に差支えない旨の意見が出されている。

2) 国外の状況

世界的には米国のペンシルベニア大学、オーストラリアの西オーストラリア大学で行われている。ペンシルベニア大学での遺伝子治療は Albelda らのグループにより行われ、論文発表されているものとして、①Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk)を組み込んだアデノウイルスベクターの胸腔内投与とガンシクロビル(BCNU)の全身投与を組み合わせた遺伝子治療、②インターフェロンベータ(IFN-beta)を組み込んだアデノウイルスベクター胸腔内投与による遺伝子治療、がある。

① HSV-tk による遺伝子治療の臨床第 1 相試験は 1995 年 11 月から開始された。HSV-tk 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを 1 回、胸腔内に直接投与し、その後ガンシクロビル(BCNU)の全身投与を行った。21 人の未治療の悪性中皮腫患者に対して投与するウイルス量を約 3 倍ずつ上げ、 5.0×10^{13} vp まで達したが、重篤な副作用は認めず、最大耐量には達しなかった[一過性リンパ球減少 (grade 4) 1 例、肝機能異常 (grade 3) 1 例、その他、軽度の一過性の発熱、低酸素血症、低血圧、肝機能異常、低酸素血症など]。抗腫瘍効果としては 21 例中 18 例が効果を判定するのに十分な期間を得ており、うち 3 例が 1998 年 2 月の段階で画像上腫瘍の進行を認めなかった。その後、HSV-tk 遺伝子治療はステロイドを追加した投与法に変更し 5 名の患者に施行、また、1998 年 6 月からは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子はそのまにウイルスの他の構造をより安全に変更したウイルスベクターを用いて (E1/E3 欠失ウイルスから E1/E4 欠失ウイルスへ変更) 8 例に治療を行った。すなわち、合計 34 名の患者に HSV-tk 遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターが投与された。追加の症例においても重篤な副作用は認められなかった。この追加症例のうち 2 例において 6.5 年以上の長期生存を認めている。この 2 名の Positron Emission Tomography (PET) 検査では腫瘍部における、2-deoxy-2-[F-18] fluoro-D-glucose (FDG) の取り込みの低下が確認された。^{20,21)}

② IFN-beta を組み込んだアデノウイルスベクターによる悪性胸水例に対する遺伝子治療の臨床第 1 相試験が 2003 年 8 月から開始された。投与は、胸腔内投与 1 回であり、悪性

胸膜中皮腫 7 例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 例、卵巣がん 1 例に行われた。投与開始量である 9.0×10^{11} vp では重篤な副作用は認められなかったが、1 段階投与量を上げたウイルス量の 3.0×10^{12} vp では 4 人中 2 人で重篤な低酸素血症 (grade 3)、肝機能障害 (grade 3) をそれぞれ認めた。低酸素血症を認めた症例は併存疾患として慢性心不全を伴う症例であり、肝機能障害を認めた症例は、以前、悪性リンパ腫のため腹部に放射線治療の既往がある症例であった。この結果、最大耐量は 9.0×10^{11} vp と決定された。悪性胸膜中皮腫 7 例の治療効果に関しては、投与後 60 日の CT の評価において 4 例で腫瘍の大きさは変わらず、3 例で腫瘍の増大を認めた。また PET 検査では 3 例で不変、1 例で FDG の取り込みの低下を認めた。生存に関しては研究が発表された時点で、生存者は 3 名 (34 ヶ月、32 ヶ月、26 ヶ月) であった。²²⁾

また 2006 年 9 月から、同じく IFN-beta を組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が行われた。対象疾患の内訳は悪性胸膜中皮腫 10 例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 例、卵巣がん 2 例、乳がん 2 名であり、開始後 14 名は投与間隔を 2 週間、残りの 3 名は投与間隔を 1 週間と設定された。投与ウイルス量は 3.0×10^{11} vp ~ 3.0×10^{12} vp で行われた。安全性に関しては、ほとんどが予測可能な軽度から中等度の副作用であったが (リンパ球減少、低アルブミン血症、低血圧、低カルシウム血症、発熱と震え、吐き気、頻脈など) 2 例に予期せぬ副作用が認められた。1 例目は 1 回目の投与後、部分トロンボプラスチン時間値が上昇し、2 回目の投与基準を満たせず 1 回投与のみとなった。しかしながら、長期の経過観察期間中、出血、凝固異常も含め特に症状は出現しなかった。2 例目は、2 回目のウイルスベクター投与後 14 日の間に心タンポナーデを発症した症例である。呼吸困難の増悪、嘔吐の症状があり、心嚢ドレナージを行った。原因は 2 回目投与の際に起こった、炎症反応によるものと推測された。このため今回の REIC 遺伝子治療においても、安全性の確保のため、明らかな心嚢水を有する場合を除外基準として設定している。腫瘍の縮小効果として悪性胸膜中皮腫 10 例中病変部の大きさが評価可能であった 8 例を検討したところ、投与後 2 か月の評価において 2 例で不変、6 例で腫瘍の増大を認めた。生存に関しては論文が発表された時点で、3 例の生存例 (42 ヶ月、39 ヶ月、18 ヶ月) を認めた。²³⁾

ペンシルベニア大学で現在症例集積を行っている遺伝子治療としては、2009 年 2 月から IFN-alpha を組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が開始された。また、2010 年 4 月からは同じく IFN-alpha を用いた遺伝子治療に抗がん剤を組み合わせる治療の臨床試験が開始されている。

米国以外の状況としては、オーストラリアで遺伝子治療が行われた。西オーストラリア大学の Robinson らはインターロイキン-2 を組み込んだワクシニアウイルスベクターを、12 週間にわたって腫瘍内に直接投与する遺伝子治療を行った ($1.0 \times 10^5 \sim 1.0 \times 10^7$ plaque-forming units)。2000 年に発表された論文によると、特に重篤な副作用は出現しなかった。治療効果としては臨床的、画像的效果は認められなかった。²⁴⁾

研究名	悪性胸膜中皮腫に対する 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	悪性胸膜中皮腫、悪性胸水を伴う転移性腫瘍に対する Interferon-beta 遺伝子発現アデノウイルスベクター単回投与による遺伝子治療臨床研究	悪性胸膜中皮腫、悪性胸水を伴う転移性腫瘍に対する Interferon-beta 遺伝子発現アデノウイルスベクター反復投与による遺伝子治療臨床研究	胸膜悪性中皮腫に対する Interferon-alpha 遺伝子発現アデノウイルスベクター反復投与による遺伝子治療臨床研究	悪性胸膜中皮腫に対する Interferon-alpha 遺伝子発現アデノウイルスベクターと化学療法による遺伝子治療臨床研究
実施機関	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学
実施症例	34 例	10 例（悪性胸膜中皮腫 7 例）	17 例（悪性胸膜中皮腫 10 例）	9 例（12 例予定）	20 例予定
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	アデノウイルスベクター	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	ヘルペスウイルススチミジンキナーゼ	インターフェロン-ベータ	インターフェロン-ベータ	インターフェロン-アルファ	インターフェロン-アルファ
年齢	75 歳未満	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし
注入部位	胸腔	胸腔	胸腔	胸腔	胸腔
投与回数	1 回	1 回	2 回	2 回	2 回
米国での状況	1995 年 11 月に実施	2003 年 4 月に実施	2006 年 3 月に実施	2009 年 2 月から実施中	2010 年 4 月
安全性	死亡例なし	死亡例なし	死亡例なし	確認中	確認中
治療効果（効果判定は治療後 60 日での評価です）	8 人中 3 人で腫瘍の増殖が停止	7 人中 4 人で腫瘍の増殖が停止	8 人中 2 人で腫瘍の増殖が停止	9 人中 2 人で腫瘍が縮小、3 人で増殖が停止	観察中
生存（研究発表時点）	2 名の長期生存者（79.5, 80 カ月）	3 名の生存者（34, 32, 26 カ月）	3 名の生存者（42, 39, 18 カ月）	観察中	観察中

11-4. REIC/Dkk-3 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 REIC/Dkk-3 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の原材料から、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、桃太郎源社が製造委託している米国ベイラー医科大学において生産され、同社より供与を受ける。

同社より提供を受けた後は、岡山大学病院新医療研究開発センター・探索的医薬品開発室（平成 15 年度設置）において受け入れ試験を施行した後、同所において保管する。

11-5. 引用文献のリスト

- 1) Robinson B, Musk A, Lake R: Malignant Mesothelioma. *Lancet*, 366:397-408, 2005.
- 2) Robinson B, Lake R: Advances in Malignant Mesothelioma. *N Engl J Med*, 353:1591-1603, 2010.
- 3) Vogelzang N, Rusthoven J, Symanowski J, Denham C, Kaukel E, Ruffie P, Gatzemeier U, Boyer M, Emri S, Manegold C, Niyikiza C, Paoletti P: Phase III Study of Pemetrexed in Combination With Cisplatin Versus Cisplatin alone With Malignant Pleural Mesothelioma. *J Clin Oncol* 21:2636-2644.
- 4) Tsuji T, Miyazaki M, Sakaguchi M, Inoue Y, Namba M: A REIC gene shows down-regulation in human immortalized cells and human tumor-derived cell lines. *Biochem Biophys Res Commun* 268: 20-24, 2000.
- 5) Tsuji T, Nozaki I, Miyazaki M, Sakaguchi M, Pu H, Hamazaki Y, Iijima O, Namba M: Antiproliferative activity of REIC/Dkk-3 and its significant down-regulation in non-small-cell lung carcinomas. *Biochem Biophys Res Commun* 289: 257-263, 2001.
- 6) Abarzua F, Sakaguchi M, Takaishi M, Nasu Y, Kurose K, Ebara S, Miyazaki M, Namba M, Kumon H, Huh NH: Adenovirus-mediated overexpression of REIC/Dkk-3 selectively induces apoptosis in human prostate cancer cells through activation of c-Jun-NH2-kinase. *Cancer Res* 65: 9617-9622, 2005.
- 7) Tanimoto R, Abarzua F, Sakaguchi M, Takaishi M, Nasu Y, Kumon H, Huh NH: REIC/Dkk-3 as a potential gene therapeutic agent against human testicular cancer. *Int J Mol Med* 19: 363-368, 2007.
- 8) Edamura K, Nasu Y, Takaishi M, Kobayashi T, Abarzua F, Sakaguchi M, Kashiwakura Y, Ebara S, Saika T, Watanabe M, Huh NH, Kumon H: Adenovirus-mediated REIC/Dkk-3 gene transfer inhibits tumor growth and metastasis in an orthotopic prostate cancer model. *Cancer Gene Ther* 14: 765-772, 2007.

- 9) Watanabe M, Kashiwakura Y, Huang P, Ochiai K, Futami J, Li SA, Takaoka M, Nasu Y, Sakaguchi M, Huh NH, Kumon H: Immunological aspects of REIC/Dkk-3 in monocyte differentiation and tumor regression. *Int J Oncol* 34: 657-663, 2009.
- 10) Kashiwakura Y, Ochiai K, Watanabe M, Abarzua F, Sakaguchi M, Takaoka M, Tanimoto R, Nasu Y, Huh NH, Kumon H: Down-regulation of inhibition of differentiation-1 via activation of activating transcription factor 3 and Smad regulates REIC/Dickkopf-3-induced apoptosis. *Cancer Res* 68: 8333-8341, 2008.
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) Abarzua F, Sakaguchi M, Tanimoto R, Sonegawa H, Li DW, Edamura K, Kobayashi T, Watanabe M, Kashiwakura Y, Kaku H, Saika T, Nakamura K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH: Heat shock proteins play a crucial role in tumor-specific apoptosis by REIC/Dkk-3. *Int J Mol Med* 20: 37-43, 2007.
- 15) Sakaguchi M, Kataoka K, Abarzua F, Tanimoto R, Watanabe M, Murata H, Than SS, Kurose K, Kashiwakura Y, Ochiai K, Nasu Y, Kumon H, Huh NH: Overexpression of REIC/Dkk-3 in normal fibroblasts suppresses tumor growth via induction of IL-7. *J Biol Chem* [Epub ahead of print], Mar 11, 2009.
- 16) 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
- 17) 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 adenocarcinoma of the Prostate: A Phase I Clinical Trial. *Human Gene Therapy* 10:1239- 1249, 1999 8
- 18) Miles BJ., Shalev M., Aguilar-Cordova E., Timme TL., Lee H-M., Yang G., Adler HL., Kernen 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
- 19) Nasu Y, Saika T, Ebara S, Kusaka N, Kaku H, Abarzua F, Manabe D, Thompson TC, Kumon H. :Suicide gene therapy with adenoviral delivery of HSV-tK gene for patients with local recurrence of prostate cancer after hormonal therapy. *Mol. Ther.* 15 (4), 834-40, 2007
 - 20) Sterman DH, Treat J, Litzky LA, Amin KM, Coonrod L, Molnar-Kimber K, et al. Adenovirus-mediated herpes simplex virus thymidine kinase/ganciclovir gene therapy in patients with localized malignancy: results of a phase I clinical trial in malignant mesothelioma. *Hum Gene Ther.* 9, 1083-1092, 1998
 - 21) Sterman DH., Recio A., Vachani A., Sun J., Cheung L., DeLong P., Amin KM., Litzky LA., Wilson JM., Kaiser LR., Albelda SM. :Long-term Follow-up of Patients with Malignant Pleural Mesothelioma Receiving High-Dose Adenovirus Herpes Simplex Thymidine Kinase/Ganciclovir Suicide Gene Therapy. *Clin Cancer Res* 11 (20), 7444-7453, 2005
 - 22) Sterman DH., Recio A., Carroll RG., Gillespie CT., Haas A., Vachani A., Kapoor V., Sun j., Hodinka R., Brown JL., Corbley MJ., Parr M., Ho M., Pastan I., Machuzak M., Benedict W., Zhang X-q, Lord EM., Litzky LA., Heitjan DF., June CH., Kaiser LR., Vonderheide RH., Albelda SM. :A Phase I Clinical Trial of Single-Dose Intrapleural IFN- β Gene Transfer for Malignant Pleural Mesothelioma and Metastatic Pleural Effusions: High Rate of Antitumor Immune Responses. *Clin Cancer Res.* 13 (15), 4456-4466, 2007
 - 23) Sterman DH, Recio A, Haas AR, Vachani A, Katz SI, Gillespie CT, et al. A phase I trial of repeated intrapleural adenoviral-mediated interferon-beta gene transfer for mesothelioma and metastatic pleural effusions. *Mol Ther.* 18, 852-60, 2010
 - 24) Mukherjee S, Haenel T, Himbeck R, Scott B, Ramshaw I, Lake RA, et al. Replication-restricted vaccinia as a cytokine gene therapy vector in cancer: persistent transgene expression despite antibody generation. *Cancer Gene Ther.* 7, 663-70, 2000

添付書類 12-1

悪性胸膜中皮腫遺伝子治療臨床研究のための 説明文書と同意書

目 次

説明文書

1. はじめに	2
2. 臨床研究について	2
3. 悪性胸膜中皮腫について	2
4. 遺伝子治療臨床研究の概要について	4
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	6
7. 臨床研究の進め方について	6
8. 適応判定について	8
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	11
11. 安全性と副作用について	11
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. 遺伝子治療の現状について	13
14. 患者さんの権利と義務と注意点について	16
15. 治療に関わる諸経費について	17
16. 遺伝子治療臨床研究の実施に必要な手続きについて	17
17. 同意の撤回について	18
18. 同意撤回後の資料の取り扱いについて	18
19. 個人情報の保護について	18
20. 緊急連絡先と質問の問い合わせ先について	19
21. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制	19
悪性胸膜中皮腫遺伝子治療臨床研究に関する同意書	21
悪性胸膜中皮腫遺伝子治療臨床研究に関する同意撤回書	23

説 明 文 書

1. はじめに

私たちのからだ中の細胞は、私たちのからだ中に組み込まれている遺伝子の命令で作られ、いろいろな役割を果たしています。

現在私たちは、人の正常な細胞には存在するけれども、がん(腫瘍)の細胞には存在しない遺伝子を、からだの外から腫瘍の細胞に入れて、その遺伝子の働きで腫瘍細胞が増えることを抑えたり、腫瘍細胞を死滅させたりすることにより、腫瘍を治療するという「遺伝子治療」を考えています。しかし、この遺伝子治療はまだ研究中で、どのような患者さんに、どのくらい効き目があるか、どのような好ましくない症状が現れるかはわかっていません。

そこで今回、悪性胸膜中皮腫の患者さんのなかで、参加することに同意いただける患者さんを対象に、この遺伝子治療の研究(以下「臨床研究」と略します)を計画しました。これから、この臨床研究で行われる悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療の仕組み、期待される効果や安全性、予想される副作用などについて説明しますので、この臨床研究に参加して遺伝子治療を受けられるかどうかをご検討ください。

この臨床研究に参加される方の人権を守るため、この臨床研究への参加は、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す。この文書に基づいて担当の医師が詳しく、また、わからないことがあれば何度でも説明いたしますとともに、次の二つの事項を約束いたします。

- ① 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、今後の治療に不利益を受けることは一切ないこと。
- ② 臨床研究に参加することを同意した後や臨床研究が開始されてからでも、研究参加の同意を撤回することができること。

2. 臨床研究について

臨床研究とは、新しい薬や治療法などの有効性や安全性を調べるため、人間を対象として行われる試験的な研究のことです。広く患者さんに受けられるようにするためには、何段階もの臨床研究を行い、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に評価することが必要になります。悪性胸膜中皮腫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です。患者さんに本当に効果があるかどうか、安全かどうか、わからないところもたくさんあります。今回、あなたに紹介する臨床研究では、安全性を調べるのが主な目的ですが、同時に、可能な範囲で治療の効果も調べる予定です。

3. 悪性胸膜中皮腫について

悪性胸膜中皮腫は、胸膜(胸腔や肺の表面を覆っている薄い組織層)から悪性の細

胞（腫瘍）が発生してくる疾患で、限局期と進行期に分類されます。

1) 限局期の悪性胸膜中皮腫（Ⅰ期）

限局期の悪性胸膜中皮腫の場合、胸壁の内側を覆う組織に腫瘍が認められ、さらに肺の表面や横隔膜の表面、または心嚢（心臓を包む袋状の組織）の表面（左右で分けて腫瘍が存在する方のみ）に腫瘍が広がっていることもあります。

2) 進行期の悪性胸膜中皮腫（Ⅱ期、Ⅲ期、Ⅳ期）

進行期の悪性胸膜中皮腫には、Ⅱ期、Ⅲ期、Ⅳ期の悪性胸膜中皮腫が含まれます。

- ・Ⅱ期では、胸壁の内側を覆う組織と、胸部の同側のリンパ節に腫瘍が認められます。さらに肺の表面、横隔膜の表面、または心嚢（心臓を包む袋状の組織）の表面（左右で分けて腫瘍が存在する方のみ）に腫瘍が広がっていることもあります。

- ・Ⅲ期では、腫瘍が次の部位のいずれかに広がっています。

- 胸壁
- 縦隔
- 心臓
- 横隔膜を越えた領域
- 腹膜

さらに、腫瘍とは反対側にある胸部のリンパ節か胸部以外のリンパ節に腫瘍が転移していることもあります。

- ・Ⅳ期では、遠く離れた臓器または組織に腫瘍が転移しています。

この他に、治療後に再び発生（再発）した再発悪性胸膜中皮腫があり、再発は胸部や腹部に起こることもあれば、体の別の部位に起こることもあります。

悪性胸膜中皮腫を発症する人の多くは、アスベストを吸入したり飲み込んだりすることの多い環境で勤務または生活していた経験をもっています。しかし、アスベストに曝された後も、実際に悪性胸膜中皮腫を発症するまでには通常長い潜伏期間があります。

悪性胸膜中皮腫の危険因子としては、この他に次のようなものがあります。

- ・アスベストの存在する環境で勤務している人と生活をともにしていること
- ・特定のウイルスに感染していること

悪性胸膜中皮腫の徴候として考えられるものには、次の症状が見られます。

- ・呼吸障害
- ・肋骨の奥の痛み
- ・腹部の痛みや腫れ
- ・腹部のしこり
- ・原因不明の体重減少

また、次のような要因が予後（回復の見込み）や治療法の選択に影響を及ぼします。

- ・腫瘍の病期
- ・腫瘍の大きさ
- ・手術によって腫瘍を完全に摘出できるかどうか
- ・胸腔内または腹腔内に溜まった液体の量
- ・患者さんの年齢と健康状態（特に肺と心臓の状態）
- ・中皮腫細胞の種類と顕微鏡で観察したときの外観
- ・新たに診断された腫瘍か、再発した腫瘍か。

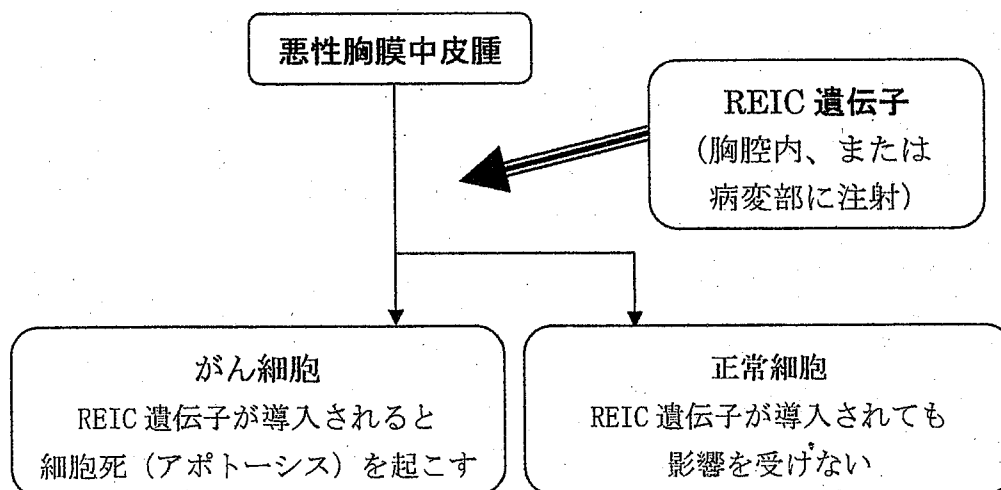
4. 遺伝子治療臨床研究の概要について

岡山大学では、2000年（平成12年）に REIC 遺伝子という新しい遺伝子を発見しました。この遺伝子を詳しく調べてゆくと、この遺伝子はがん抑制遺伝子という遺伝子の一種であり、腫瘍細胞の中で発現させる（作り出させる）と、その腫瘍細胞が死滅（アポトーシス）することがわかりました。このアポトーシスの誘導作用（導き出す作用）は、腫瘍細胞でだけ起こり、正常細胞は影響を受けないこともわかってきました。つまり、化学療法剤のような強い副作用を起こすことなく、腫瘍を治癒させることが期待されます。さらに、このような腫瘍細胞だけを死滅させる作用に加え、腫瘍に対する免疫力を高めて腫瘍を治癒に向かわせる免疫誘導能を持っていることも明らかになっています。

そこで、今回計画している遺伝子治療では、この REIC 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悪性胸膜中皮腫細胞の中に運んで（入れて）、悪性胸膜中皮腫細胞だけをアポトーシスに陥れさせる（細胞死させる）ことを期待しています。

このように、病変部（今回の試験では胸腔内にも）に REIC 遺伝子を直接投与する方法は、血管内に投与する方法に比べて安全性が高いことが予想されます。

図1 REIC 遺伝子導入による抗腫瘍効果の説明



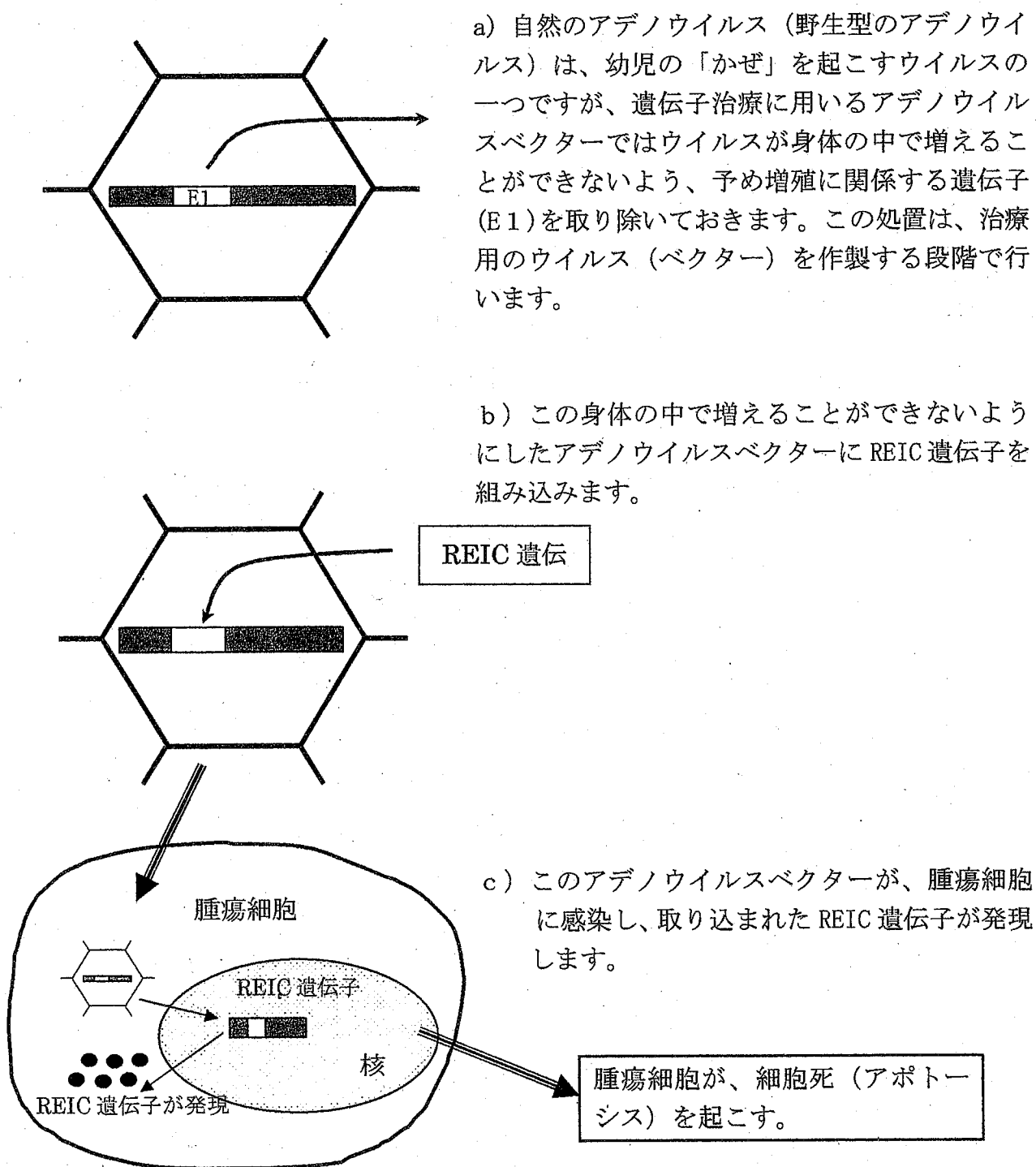
5. アデノウイルスベクターについて

遺伝子を細胞の中に入れるため、その運び屋（ベクター）としてウイルスを使いますが、今回の試験では、このベクターとしてアデノウイルスを使います。

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、今回の試験では、身体の中で増えることができないように処理をし、このアデノウイルスベクターに REIC 遺伝子を組み込んで注射します。すると、アデノウイルスベクターが、腫瘍細胞に感染し、腫瘍細胞の中で REIC 遺伝子が発現し、腫瘍細胞が死滅します。

一方、腫瘍細胞に感染したアデノウイルスベクターは、約 2 週間で細胞の中から消えてしまい、新しいウイルスを作り出すことはありません。

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

これまでの細胞や動物を使った研究によって、REIC 遺伝子による遺伝子治療は、腫瘍細胞だけが細胞死（アポトーシス）し、正常細胞は影響を受けない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、胸膜に移植された悪性胸膜中皮腫に対して治療効果を示すだけでなく、肺やリンパ節への転移を抑える全身的な効果があることも明らかになっています。

また、安全性を評価するため、アデノウイルスベクターをマウス胸腔内に投与してその広がり解析した動物実験では、全身的な広がり認められず、解剖学的に隣接する臓器だけにアデノウイルスベクターが認められました。

このような実験の結果から、実際の患者さんの治療にも安全で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 REIC 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、また患者さんの腫瘍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悪性胸膜中皮腫の病変部が小さくなったり、増殖が止まったりすることを期待していますが、今回の臨床試験の主な目的は、REIC 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は低い用量から開始しますので、治療効果を発揮するためには用量が低すぎることも予測され、腫瘍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。また、本研究に参加しなかった場合は、原則として標準治療である前治療（シスプラチン＋アリムタ）は使用されているため、その時の病状、病歴に応じて個々に対応します。状況に応じて、その他の抗癌剤等の投与を行うこともあります。

7. 臨床研究の進め方について

この臨床研究では、REIC 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、投与量を段階的に増やしながら注進めます。

まず、3 人の患者さんに 1×10^{11} vp のアデノウイルスベクターを投与して、副作用と腫瘍に対する効果の有無を調べます（レベル 1）

vp というのは、viral particle の略で、ウイルスの数を意味しています。

レベル 1 の治療で重い副作用が認められなければ、次の 3 人の患者さんに約 3 倍増量したアデノウイルスベクター (3×10^{11} vp) を投与します（レベル 2）。

レベル 2 の治療でも重い副作用が認められない場合には、さらに約 3 倍増量したアデノウイルスベクター (1×10^{12} vp) を投与します（レベル 3）。

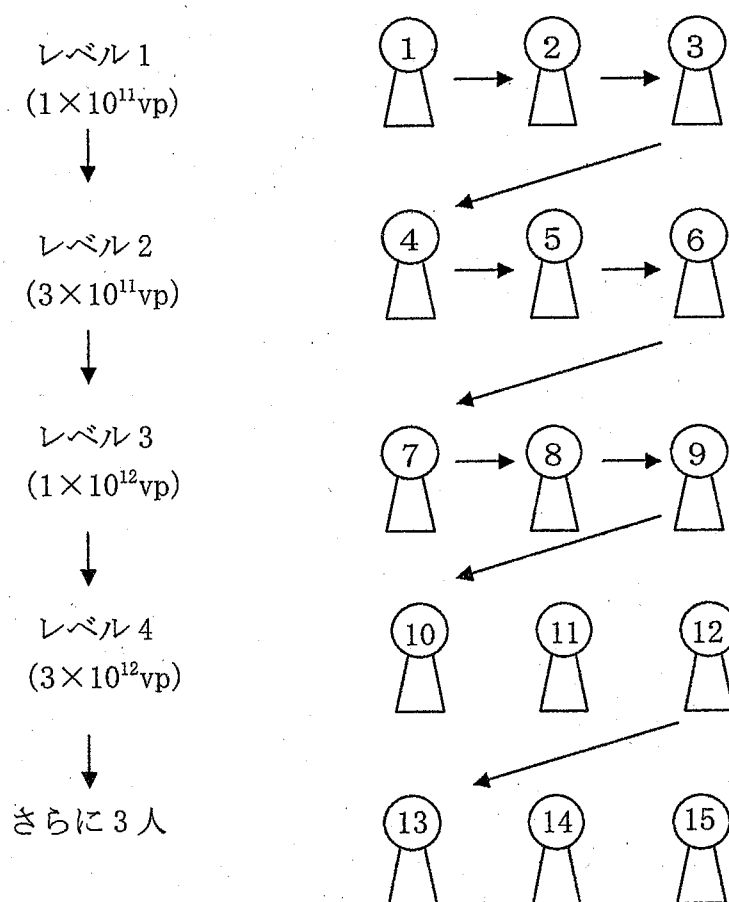
レベル3の治療でも重い副作用が認められない場合には、さらに約3倍増量したアデノウイルスベクター(3×10^{12} vp)を投与します(レベル4)。

レベル4の投与量が今回の試験の最大投与量になります。このレベル4の治療でも重い副作用が認められなければ、同じ投与量(3×10^{12} vp)での安全性と治療効果を確認するため、さらに3人の患者さんに投与します。

このように、研究が計画通りに進めば、合計15人の患者さんでこの臨床研究が終了します。この進め方の理解を助けるために、次の図3に計画の概要を示しました。

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投与を中止し、副作用に対する治療に努めます。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さらに検討を続けます。

図3 臨床研究の進め方



あなたに予定されているベクターの投与量はレベル()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ください。

8. 適応判定について

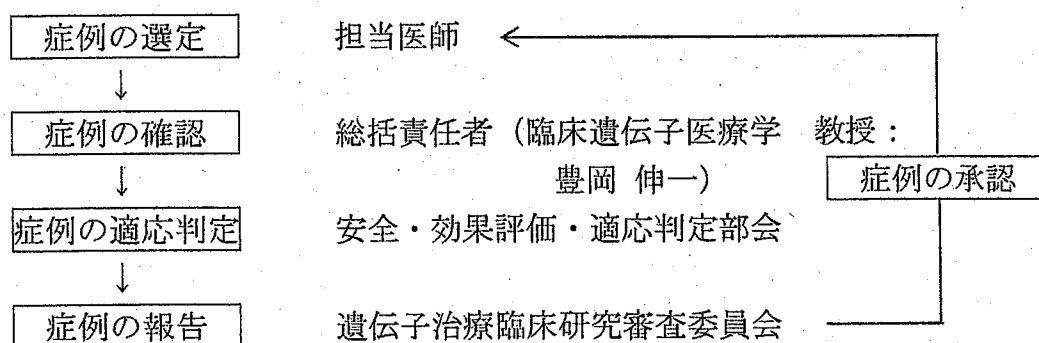
この臨床研究の対象となるのは、①ペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことがある悪性胸膜中皮腫の患者さん、または②化学療法や手術による治療を受けることができないか、これらの治療を受けたくない患者さんのうち、根治目的の手術の適応とならない（手術では完全に治療することができない）と考えられる悪性胸膜中皮腫の患者さん、です。すでに前にも記載しましたように、今回の REIC 遺伝子による治療は胸水や胸膜局所だけでなく、転移巣にも効果があると考えられます。

担当医師により、あなたの病状が、この臨床研究に適している判断された場合、あなたの病歴、全身状態を含めた検査結果が岡山大学病院の遺伝子治療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）。この部会で、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署名して遺伝子治療を受けることに同意されますと、治療が開始されます。

なお、研究に参加いただける患者さんの、その他の医学的な条件には次のようなものがあります。

- ①悪性胸膜中皮腫に対してペメトレキセドを含む全身化学療法による治療を受けたことがあり、化学療法剤の最終投与日から症例登録申請まで3週間以上が経過しており、その有害事象（この試験の前に受けていた治療による副作用など）の影響を持ち越していないこと。
- ②悪性胸膜中皮腫に対する全身化学療法に対して過敏症等があり、化学療法による治療を受けることができないこと。
- ③画像診断により測定可能な病変が観察されること。
- ④同意取得時点の年齢が20歳以上75歳未満であること。
- 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。

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、岡山大学病院総合診療棟コンピューター断層撮影（CT）室で局所麻酔を行い、CT ガイド下に行います。胸水が溜まっている胸

腔に注入する場合は、胸腔チューブを留置し、はじめに貯留している胸水を可能な限り体外に排出します。続いて 50ml のアデノウイルスベクターをチューブから胸腔内に注入します。胸膜の腫瘍部に直接注入する場合は、1つの腫瘍に対してのみアデノウイルスベクターを 1-2ml 注入します。なお、胸腔内注入量と腫瘍内注入量は液体の量としては違いますが、溶けているウイルスの数は同じです。胸腔チューブは注入後、胸水が増加することが考えられるため、原則として注入後 7 日間は留置したままとします。その後、問題がないようでしたら抜去します。また、感染症予防のため、治療後 3 日間、抗生剤を投与します。

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、遺伝子の運び屋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です。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は、自由に病室の出入りができるようになります（遺伝子を注射したあとおよそ数日間と考えています）。

3) 遺伝子導入後の総合評価

アデノウイルスベクターの注射後 4 週間、副作用の有無の調査と治療効果の評価を行い、治療を終了した 4 週後に、安全・効果評価・適応判定部会において臨床症状、検査結果および病変部の総合評価を行います。

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、副作用とベクターの体内での濃度を調べる必要があります、2 日毎に採血を行います。ベクター注入後、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、また、胸腔内にチューブが入っている場合は排泄胸水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、着衣や病室内についても消毒等を行います。

アデノウイルスベクターを注射した後に、組織検査、コンピューター断層撮影(CT)、PET-CT 撮影などによって治療効果を判定します。

入院の期間については治療中の健康状態、お住まいのご住所などにより適宜相談し判断させていただきますが、遺伝子を注入して少なくとも一週間は入院していただきます。なお、担当医師が医学的に可能と判断し、同意がいただけた場合、治療効果を判定するため、治療前と治療をはじめて 4 週以降に胸水を、腫瘍が存在している場合には、胸水採取または投与部位の生検を行って、腫瘍細胞の有無、変化などを調べます。

以下に検査の項目とスケジュールを示しており、採血させていただく血液の量は、一回あたり概ね 20~30ml です。

安全性の評価及び効果の判定に関する検査項目並びにタイムスケジュール

項目	登録時	投与前	投与初日	7日後	2週後	3週後	4週後	治療終了後 (4週毎)	1年後
理学所見	○	← 毎日 →				○	○		○
血液・生化学検査 (血液、尿、胸水)	○	○	2日毎		○	○	○		○
心電図	○		○ 投与翌日まで	○			○		○
胸部X線	○						○	○	○
胸部CT	○	○		○	○		○	○	○
PET-CT	○						○		○
アデノウイルス中和抗体 (血液、胸水)		○	2日毎		○		○		○
アデノウイルススペクター の測定		○	2日毎		○	○	○		○
バイオマーカー		○					○		
細胞性・体液性免疫反応		○			○	○	○		
腫瘍におけるREIC/Dkk-3 発現の確認 (可能な場合)							△		

5) 退院後のスケジュール

この臨床研究が終った後、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ください。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です。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行います。

6) 治療の継続について

4 週時点で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、治療を続行することが可能です。この効果判定は、病勢の判定に役立つと考えられている腫瘍マーカーである Mesothelin と VEGF の値の変化、CT による画像検査などで判定します。Mesothelin や VEGF の値が治療前に比べて上昇していないか、あるい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これに該当します。

追加投与について患者さんの了解が得られた場合、担当医師および総括責任者は 4 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します。この部会で、追加投与について適格性を科学的、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します。

なお、遺伝子治療継続中に、同じ患者さんに投与するアデノウイルススペクターの量を増量することはできません。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状態で、再び本臨床研究を受ける希望がある場合も、二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、腫瘍の退縮および増大の停止、腫瘍マーカーである Mesothelin や VEGF の値が下降したり、上昇が止まること。症状に関しては、胸水の貯留量が減少することによる呼吸困難の改善、腫瘍の退縮に伴う痛みの軽減などが考えられます。さらに、これらの効果が長期にわたって保たれ、長期の生存が得られることがあります。

11. 安全性と副作用について

1) REIC 遺伝子の安全性

REIC 遺伝子は、ヒトの正常細胞では普通に機能している遺伝子で、治療の目的では岡山大学で、前立腺がんの患者さんで試験が始まっています。現在（平成 25 年 7 月末）、20 名に投与が終わっていますが、現在のところ重篤な副作用は認められていません。

なお、マウスを用いて REIC 遺伝子を投与する実験を繰り返しましたが、いずれのマウスにも重い副作用は生じませんでした。また、REIC 遺伝子は腫瘍細胞を死滅させますが、正常細胞には REIC 遺伝子が存在しており、正常細胞に REIC 遺伝子を用いてもほとんど影響を与えないことを確認しています。

2) アデノウイルスベクターの安全性

REIC 遺伝子を腫瘍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できないように、ウイルスの一部を取り除く操作を行っています。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を完全に除くことは非常に難しいのが現実です。

今回の試験で使用する REIC 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・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さんが死亡しました。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（「自殺遺伝子」と呼ばれ、がん細胞自らを死に至らしめる自殺機能を有しています）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がんの遺伝子治療では、1 例で肝機能障害が認められました。

また、投与患者さんの20%に一時的な発熱などの副作用が認められています。

肝機能障害が認められた症例では、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入り、血液内にベクターが流れ込んだ疑いがあります。このため、私たちは血管内に誤って投与することなく確実に胸腔内あるいは病変部への注入ができ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。この試験では、重い副作用は起こらず、アデノウイルスベクターを前立腺内に確実に投与できることを確認しています。

3) アデノウイルスベクターの投与法による副作用

アデノウイルスベクター液は、前に述べましたように、胸腔内注入の場合は胸腔チューブを留置して注入し、胸膜の腫瘍性病変に対しては、直接一時的に針を刺して注入します。穿刺(針を刺すこと)やチューブの留置による出血、感染などの合併症が考えられますが、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、万一このようなことが起こった場合には適切に処置をいたします。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、点滴ならびに抗アレルギー薬によって改善します。麻酔は局所麻酔で行います。局所麻酔後に、のどの違和感などの副作用が起きる可能性がありますが、多くの場合、時間とともに軽快していきます。

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、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になっています。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。

12. 遺伝子治療臨床研究に関わる有害事象(副作用など)が生じた場合について

臨床研究の期間中およ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ください。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どのような身体的な障害に対しても、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どのような有害事象に対しても、その治療に対して全額負担いたします。

ただし、通院、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できません。

13. 遺伝子治療の現状について

1) アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療

今回の遺伝子治療ではアデノウイルスベクターを用います。岡山大学では前立腺癌を中心にアデノウイルスベクターに関する安全性を中心とした多くの情報を有していますので説明いたします。

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がんを対象とし、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行いました。この研究は、2001年3月から第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行い、6ヶ月以上観察し臨床試験を終了しています(8名のべ9症例)。この9症例すべてにおいて副作用を認めませんでした。治療効果の指標とされる腫瘍マーカーであるPSAは、9例中6例で低下し、安全性と治療効果が確認されました。さらに、岡山大学では、ベイラー医科大学より提供されたインターロイキン12遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを用いて、内分泌治療に反応しなくなった遠隔転移を含む再燃前立腺がんを対象として、アデノウイルスベクターを単独で前立腺がん病巣、または転移病巣内に直接投与する遺伝子治療臨床研究も2008年5月から開始しています。現在までに10例の治療を行いましたが、重篤な副作用は生じていません。

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REIC遺伝子を組み込んだ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。

2) REIC遺伝子を用いた遺伝子治療について

REIC遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療は岡山大学において前立腺がんの患者さんを対象に行われています。平成23年1月25日に、研究が開始されました。対象となる病状は内分泌療法抵抗性再燃前立腺がん(A群)、ハイリスク初発限局性前立腺がん(B群)であり、投与量の量を4段階に設定し、REIC遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを投与した際の安全性の確認を主要な目的とし、治療効果の観察をその次の目的とした研究です。平成25年7月末現在で、20名に投与が行われ研究が進行中です。現時点では重篤な副作用は認められておりません。研究が終了していない段階で結論的なことは言えませんが、研究の主目的である安全性についてはほぼ確認がなされた状態といえます。また一部の症例では有効性を示す結果が得られています。今回用いるREIC遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターは、現在前立腺がん用に用いているREIC遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターと構造が一部異なったものを用いますが、事前の研究でその安全性ならびに治療効果に差はないものと予想されています。変更するのは遺伝子そのものではなくプロモーターという部分です。現在前立腺がん用に用いているアデノウイルスベクターに何らかの問題があるのではなく、アデノウイルスベ

クターを作成し我々に供給する施設の変更に伴うものです。

3) 悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療

悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療は、米国とオーストラリアのそれぞれ1施設で行われています。国内ではまだ実施されておられません。悪性胸膜中皮腫の患者さんに対して REIC 遺伝子を導入する遺伝子治療は国内外で初めてです。

世界で報告された試験は、ペンシルバニア大学のグループにより 1995 年 11 月から行われました。前立腺がんと同様、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 1 回、胸腔内に直接投与し、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方法です。悪性胸膜中皮腫患者に対して、今回の試験と同じように投与するウイルス量を約 3 倍ずつ上げていき、最大投与量を決定する臨床試験です。5.0×10¹³ viral particle (vp: ウイルスの粒子の数) まで投与ウイルス量を増量しましたが、生命を脅かすような重篤な副作用は認められませんでした（一過性のリンパ球減少、肝機能異常、その他ごく軽度の一過性の発熱、低酸素血症、低血圧など）。抗腫瘍効果は、18 例のうち 3 例で画像上腫瘍の進行が一時抑えられたと判断されました。その後、症例を重ね、合計 34 名の患者に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が投与されました。生存に関しましては、10 年以上長期生存中の患者さんを 1 名、認めています。

ペンシルベニア大学の同じグループは 2003 年 8 月からインターフェロン - ベータを組み込んだアデノウイルスを、悪性胸水を有する患者さんに 1 回、胸腔内投与を行う臨床第 1 相試験を行いました。悪性胸膜中皮腫 7 名、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 名、卵巣癌 1 名が試験に参加しました。投与開始量である 9.0×10¹¹ vp では重篤な副作用は認められず、1 段階投与量を上げたウイルス量の 3.0×10¹² vp では 4 例中 2 例で重篤な低酸素血症、肝機能障害が出現しました。低酸素血症を認めた症例は、併存疾患として慢性心不全を伴っている症例でした。また肝機能障害を伴った症例は、以前、悪性リンパ腫のため腹部に放射線治療を受けている症例でした。直接的な因果関係はあきらかになっておりませんが、このような既往歴のため、副作用が出やすい状態であった可能性があります。なお、この試験では至適ウイルス量として 9.0×10¹¹ vp が採用されました。悪性胸膜中皮腫 7 例の治療効果に関しては、投与後 60 日の CT の評価において 4 例で腫瘍の大きさは変わらず、3 例で腫瘍の増大を認めています。PET 検査では 3 例で不変、1 例で明らかな効果を認めています。生存に関しては研究が発表された時点で、生存者は 3 名（34 ヶ月、32 ヶ月、26 ヶ月）でした。

また、2006 年 9 月からは、インターフェロン - ベータを組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が行われました。対象疾患の内訳は、悪性胸膜中皮腫 10 名、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌 2 名、卵巣癌 2 名、乳癌 2 名でした。安全性に関しては、ほとんどがアデノウイルス、炎症に関連する予測可能な軽度から中等度の副作用でしたが（リンパ球減少、低アルブミン血症、低血圧、低カルシウム血症、発熱と震え、吐き気、頻脈など）、2 例に予期せぬ副作用が認められました。1 例目は、1 回目の投与後、血液の凝固能に関連する検査値

が上昇し、規定上2回目の投与ができない状態となりました。しかしながら、出血、凝固異常も含め、特に副作用はありませんでした。2例目は、2回目のウイルスベクター投与後14日の間に発症した心タンポナーデ（心嚢に水がたまり、心臓の動きが制限される状態）でした。呼吸困難の増悪、嘔吐の症状があり、心嚢に多量の水が溜まっていました。腫瘍の縮小効果として、悪性胸膜中皮腫10例中病変部の大きさが評価可能であった8例を検討したところ、投与後60日の評価において2例で不変、6例で腫瘍の増大を認めています。生存に関しては、研究が発表された時点で、生存者は3名（42ヵ月、39ヵ月、18ヵ月）認めています。

ペンシルベニア大学では、2009年2月からインターフェロン-アルファを組み込んだアデノウイルスの繰り返し投与の安全性、有効性を検討する臨床研究が開始されています。重篤な副作用は認めておらず、9人中2人に腫瘍の縮小を認め、4人で不変、3人で増大を認めております。また、2010年4月からは同じくインターフェロン-アルファを用いた遺伝子治療に抗がん剤を組み合わせる治療の臨床試験を開始しております。

米国以外では、オーストラリアで遺伝子治療が行われています。西オーストラリア大学のRobinson教授らは、インターロイキン-2をワクシニアウイルスベクターに組み込み、12週間にわたって腫瘍内に直接投与する遺伝子治療を6例の患者に行いました。特に重篤な副作用はみられませんでした。治療効果としては、臨床的、画像的效果は認められませんでした。

次頁に、米国での悪性胸膜中皮腫に対する遺伝子治療について表にまとめています。

研究名	悪性胸膜中皮腫に対する 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	悪性胸膜中皮腫、悪性胸水を伴う転移性腫瘍に対する Interferon-beta 遺伝子発現アデノウイルスベクター単回投与による遺伝子治療臨床研究	悪性胸膜中皮腫、悪性胸水を伴う転移性腫瘍に対する Interferon-beta 遺伝子発現アデノウイルスベクター反復投与による遺伝子治療臨床研究	胸膜悪性胸膜中皮腫に対する Interferon-Alpha 遺伝子発現アデノウイルスベクター反復投与による遺伝子治療臨床研究	悪性胸膜中皮腫に対する Interferon-Alpha 遺伝子発現アデノウイルスベクターと化学療法による遺伝子治療臨床研究
実施機関	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学	米国ペンシルベニア大学
実施症例	34 例	10 例(悪性胸膜中皮腫 7 例)	17 例(悪性胸膜中皮腫 10 例)	9 例(12 例予定)	20 例予定
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	アデノウイルスベクター	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	ヘルペスウイルススチミジンキナーゼ	インターフェロン-ベータ	インターフェロン-ベータ	インターフェロン-アルファ	インターフェロン-アルファ
年齢	75 歳未満	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし	18 歳以上 上限なし
注入部位	胸腔	胸腔	胸腔	胸腔	胸腔
投与回数	1 回	1 回	2 回	2 回	2 回
米国での状況	1995 年 11 月に実施	2003 年 4 月に実施	2006 年 3 月に実施	2009 年 2 月から実施中	2010 年 4 月
安全性	死亡例なし	死亡例なし	死亡例なし	確認中	確認中
治療効果 (効果判定は治療後 60 日での評価です)	8 人中 3 人で腫瘍の増殖が停止	7 人中 4 人で腫瘍の増殖が停止	8 人中 2 人で腫瘍の増殖が停止	9 人中 2 人で腫瘍縮小、3 人で増殖が停止	観察中
生存(研究発表時点)	2 名の長期生存者(79.5, 80 ヶ月)	3 名の生存者(34, 32, 26 ヶ月)	3 名の生存者(42, 39, 18 ヶ月)	観察中	観察中

14. 患者さんの権利と義務と注意点について

人権に関わ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ください。

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お勧めします。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、病理解剖にご協力くださいますようお願いいたします。

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・他科の担当医師に報告し、本遺伝子治療臨床研究の担当医師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師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師に報告してください。

この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、あなたの生殖細胞に一時的に混入す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

本臨床研究に関わる入院中の一切の治療・検査経費に関しては、岡山大学病院が管理する資金でまかなわれ、あなた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については保険適用となりますが、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が管理する資金で負担いたします。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、公的医療保険が適用される場合、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。なお、公的医療保険が適用されない病気、治療に関しては自己負担となります。

16. 遺伝子治療臨床研究の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行う場合には、国が定めた「遺伝子治療臨床研究に関する指針」の規定にしたがって、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、がん遺伝子治療臨床研究作業委員会で、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。これらの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したがって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ください。

19. 個人情報の保護について

1) あなたの診療記録や同意書など、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いて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、当院が定めた規程により料金を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、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、また、必要に応じてその旨を説明します。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) 個人情報について、あなたの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およ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.okayama-u.ac.jp/user/hos/privacy/hospital.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くださいますようお願いいたします。

○担当係： 岡山大学病院医事課患者支援係
TEL 086-235-7205

20. 緊急連絡先と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 呼吸器外科 (TEL 086-235-7265、FAX 086-235-7269) または岡山大学病院総務課 (TEL 086-235-7507)、夜間休日であれば、岡山大学病院東8病棟 (TEL 086-235-7862) にご連絡ください。

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

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

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 呼吸器・乳腺内分泌外科学

TEL 086-235-7265

FAX 086-235-7269

3) 総括責任医師

豊岡 伸一

(岡山大学大学院医歯薬学総合研究科臨床遺伝子医療学・教授)

4) 試験担当医師

(1) 宗 淳一 岡山大学病院 呼吸器外科 助教

(2) 山根 正修 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科

医学教育リノベーションセンター・准教授

- (3) 大藤 剛宏 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
呼吸器・乳腺内分泌外科学・准教授
- (4) 三好新一郎 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科
呼吸器・乳腺内分泌外科学・教授
- (5) 堀田 勝幸 岡山大学病院 血液・腫瘍・呼吸器・アレルギー内科・助教
- (6) 田端 雅弘 岡山大学病院 腫瘍センター 准教授
- (7) 木浦 勝行 岡山大学病院 呼吸器・アレルギー内科・教授
- (8) 谷本 光音 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 血液・腫瘍・呼吸器内科学・教授
- (9) 平木 隆夫 岡山大学病院 放射線科 講師
- (10) 郷原 英夫 岡山大学病院 放射線科 講師
- (11) 金澤 右 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線医学・教授
- (12) 渡部 昌実 岡山大学病院 新医療研究開発センター 准教授
- (13) 那須 保友 岡山大学病院新 医療研究開発センター 教授

悪性胸膜中皮腫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、悪性胸膜中皮腫に対する REIC 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ました。その結果、下記の内容を理解しましたので、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およ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についても併せて同意します。

- ☐ はじめに
- ☐ 臨床研究について
- ☐ 悪性胸膜中皮腫について
- ☐ 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
- ☐ 同意の撤回について

- ☐ 同意撤回後の資料の取り扱いについて
- ☐ 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、捺印します。

なお、私は胸水および胸膜病変部の生検の実施に

☐同意します

☐同意しません

同意年月日 平成 年 月 日

患者氏名（署名） 生年月日： 年 月 日
連絡先

代諾者（署名）
連絡先

患者さんとの関係 生年月日： 年 月 日

立会人（署名）
連絡先

患者さんとの関係 生年月日： 年 月 日

説明した医師および説明日
平成 年 月 日

(署名)

(署名)

悪性胸膜中皮腫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、悪性胸膜中皮腫に対する REIC 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ことを担当医師 _____ に口頭で伝えました。

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） _____ 生年月日： 年 月 日
連絡先 _____

代諾者（署名） _____
連絡先 _____
患者さんとの関係 _____ 生年月日： 年 月 日

立会人（署名） _____
連絡先 _____
患者さんとの関係 _____ 生年月日： 年 月 日

平成 26 年 2 月 18 日

**遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する
法律に基づき申請のあった第一種使用規程に係る意見について**

遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会
委員長 山口 照英

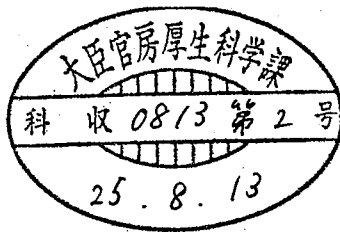
遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律（平成 15 年法律第 97 号）に基づき申請のあった下記の遺伝子組換え生物等の第一種使用規程について、本審査委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. **Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) 遺伝子**
を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型 (Adv/hREIC)
申請者：岡山大学病院 病院長 槇野 博史
申請日：平成 25 年 8 月 8 日

【審査委員会の評価結果（岡山大学病院）】

1.Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) 遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型 (Adv/hREIC)
第一種使用等の内容：治療施設におけるヒトの治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
申請者：岡山大学病院 病院長 横野 博史
(1) 生物多様性影響評価の結果について ① 他の微生物を減少させる性質 本遺伝子組換え生物 (Adv/hREIC) 及びそれに由来する増殖性アデノウイルス (RCA) の感染性は、野生型ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) と同一と考えられるので、微生物には感染せず、また、競合や有害物質の産生により他の微生物を減少させる性質はないと考えられる。 また、申請されている第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、本遺伝子組換え生物及び RCA の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしてもその量は微量であると考えられる。また、本遺伝子組換え生物は増殖能を失っているため、野生型アデノウイルスとの共感染がないかぎり環境中で増殖することはない。さらに、本遺伝子組換え生物が自然界で感染する対象はヒトに限られており、ヒト体内の同一細胞に本遺伝子組換え生物及び野生型アデノウイルスが感染する可能性は極めて低い。したがって、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、本遺伝子組換え生物は環境中に拡散したとしてもやがて環境中から消滅すると考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、他の微生物を減少させる性質に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。 ② 病原性 本遺伝子組換え生物及び RCA の感染性は、野生型 Ad5 と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒトのみである。そして、本遺伝子組換え生物が感染したヒトで一過性に REIC/Dkk-3 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。仮に RCA が出現したとしても、その病原性は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。 なお、Ad5 を宿主とする遺伝子治療用ウイルス (遺伝子組換え生物等) は 1990 年以後、国内外で汎用されているが、環境への悪影響に関する報告はない。1999 年に初めて遺伝子治療薬の投与に起因する死亡例が、当該アデノウイルスを用いた米国での遺伝子治療臨床研究において発生したが、その後の調査研究により、当該事例は、アデノウイルスの大量投与の結果、ウイルス蛋白により引き起こされた全身的免疫反応に起因するものであることが明らかにされている。 また、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり本遺伝子組換え生物及び RCA が環境中へ拡散したとしてもその量は微量であること、本遺伝子組換え生物は増殖能を失っていること、また、本遺伝子組換え生物及び RCA が自然界で感染する対象はヒトに限られていること等を踏まえると、本遺伝子組換え生物及び RCA が被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて少ないと考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、病原性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。 ③ 有害物質の産生性 本遺伝子組換え生物の有害物質の産生性は知られておらず、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。 ④ 核酸を水平伝達する性質 本遺伝子組換え生物及び RCA が自然界で感染する対象はヒトのみである。本遺伝子組換え生物が感染したヒトで一過性に REIC/Dkk-3 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの水平伝達は考えにくい。仮に RCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等である。 また、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり本遺伝子組換え生物及び RCA が環境中へ拡散したとしてもその量は微量であること、本遺伝子組換え生物は増殖能を失っていること、また、本遺伝子組換え生物及び RCA が自然界で感染する対象はヒトに限られていること等を踏まえると、本遺伝子組換え生物はやがて環境中から消滅すると考えられる。 これらのことから、第一種使用規程に従った使用を行うかぎり、核酸を水平伝達する性質に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとした申請者の結論は妥当であると判断した。 (2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論 以上を踏まえ、本遺伝子組換え生物を第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。



第一種使用規程承認申請書

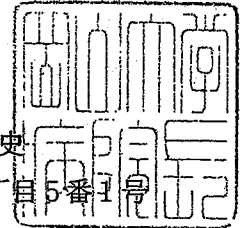
平成 25 年 8 月 8 日

厚生労働大臣 殿
環 境 大 臣 殿

申請者 氏名 岡山大学病院

病院長 榎野 博史

住所 岡山市北区鹿田町二丁目 5 番 1 号



第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の 種類の名称	Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) 遺伝子を発現する非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス5型 (Adv/hREIC)
遺伝子組換え生物等の 第一種使用等の内容	治療施設におけるヒトの治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の 第一種使用等の方法	治療施設の所在地 岡山県岡山市北区鹿田町二丁目5番1号 治療施設の名称 岡山大学病院 (1) Adv/hREIC溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内のP2レベルの実験室（以下「P2実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。 (2) 凍結状態のAdv/hREIC溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv/hREIC希釈溶液の保管は、P2実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv/hREIC希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他のP2レベル区域に運搬する必要がある場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。 (3) Adv/hREIC溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルスの不活化(0.18%若しくは0.24%次亜塩素酸ナトリウム溶液による消毒薬処理又は高圧蒸気滅菌処理による。以下同じ。)を行った後、岡山大学病院で定められた医療廃棄物管理規程（以下単に「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。 (4) P2実験室内の安全キャビネット内でAdv/hREIC溶液を緩衝液で希釈し、所定の投与量に調整したもの（以下「Adv/hREIC液」という。）を、二重に密閉し、岡山大学病院総合診療棟IVR-CT室（以下「CT室」という。）に直ちに運搬し、専用の注入用穿刺針、注射器及びチューブから成るデバイス（以下「注入セット」という。）に充填する。 (5) 悪性胸膜中皮腫に罹患した被験者に対するAdv/hREIC液の投与は、CT室において、局所麻酔下で、Adv/hREIC液をあらかじめ留置している胸腔内チューブを用いて、又はCTガイド下に注入用穿刺針を用いて、胸水貯留を認める胸腔内又は評価可能な1病変部に注入することにより行う。注入針の抜去は慎重に行い、Adv/hREIC液の漏出及びエアロゾル化を防止する。注入部位の周辺には、滅菌された不織布を二重に敷き詰める。

- (6) 被験者へのA d v / h R E I C液の投与終了後、被験者の創部を消毒する。ウイルス漏出予防のためにマスク及びガウンを着用した被験者を、C T室から、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下単に「個室」という。）に移送する。
- (7) (5)及び(6)で用いた注入セット等の器具、布及びガーゼ類は、ウイルスの不活化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、穿刺用ガイド装置等は、ウイルスの不活化を行い、再利用する。これらのウイルスの不活化をC T室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。治療後の治療室は床を消毒液で掃き清掃する。なお、治療室内の空気はH E P Aフィルターを用いた換気により約5分に1回（1時間に12回）入れ替える。
- (8) A d v / h R E I C液の投与後24時間、被験者を個室で管理する。また、A d v / h R E I C液を胸腔内に注入する際に胸腔内カテーテルチューブを挿入した場合は、その抜去後24時間、又は被験者より排出された胸水中のA d v / h R E I Cが陰性であることが確認できるまで、被験者を個室で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室から外の開放系区域に出る場合には、採血や排泄等を最小限に留め、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物等（血液、体液、尿及び糞便等をいう。以下同じ。）は、ウイルスの不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。ウイルスの不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。なお、研究用検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、A d v / h R E I C溶液の取扱いに準ずる。排泄物等が床等に落下した場合は床等を消毒液で掃き清掃する。
- (10) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、ウイルスの不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄するか、又は十分洗浄する。ウイルスの不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (11) 個室における被験者の管理を終了する前に、被験者の血液及び尿中のA d v / h R E I Cが陰性であることを確認する。A d v / h R E I Cが確認されたときは、個室における被験者の管理を継続する。また排泄物等の床等への落下の有無にかかわらず、個室における管理終了後は、床等を消毒液で掃き清掃する。

	(12) 個室における被験者の管理の終了後に、遺伝子治療臨床研究実施計画書（悪性胸膜中皮腫に対するReduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究に関する実施計画書）に示す観察期間内に被験者の血液又は尿中からAdv/hREICが検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、(8)から(11)までと同様の措置を執る。
--	--

生物多様性影響評価書

(区分：遺伝子治療臨床研究)

I 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

1 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

ヒトアデノウイルスはアデノウイルス科マストアデノウイルス属に分類されている (文献 1、2)。これまでに分離されたウイルスは、中和抗体を誘導する抗原性の違いで 51 の血清型に分けられており (文献 1、2)、ヒト Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 (REIC/Dkk-3) を発現する非増殖性の遺伝子組換えアデノウイルスベクター (Adv/hREIC) はヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) を宿主として作製された。

Ad5 は 4 歳以下の乳幼児の多くに感染しており、咽頭及び糞便からウイルスが分離される (文献 2)。Ad1、2、5、6 に対する中和抗体保有率は 1~2 歳齢では 46.7~93.3% で、20 歳齢までに 100% に達している (文献 3)。自然環境において、ヒト以外の動物での増殖は報告されていない。実験室内では、コットンラット及びニュージーランドウサギへの経鼻接種でウイルス増殖が報告されている (文献 1)。

文献 1 : Kaipe, D. M., Howley, P. M. ed.: Fields VIROLOGY fourth edition, pp.2265-2326, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)

文献 2 : 畑中正一編: ウイルス学, pp.198-208, 朝倉書店, 東京 (1997)

文献 3 : 水田克巳など: 山形県衛生研究所報, 32: 5-7 (1999)

2 使用等の歴史及び現状

ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) を生ワクチン等に使用した報告はない。Ad5 に由来するウイルスベクターが遺伝子治療で汎用されている (IV 章参照)。

3 生理・生態学的特性 (文献 1、2)

(1) 基本的特性

ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) のウイルスキャプシドは直径 80 nm の正二十面体で、エンベロープはない。ゲノムは約 36 kb の 2 本鎖 DNA である。

(2) 生育又は生育可能な環境の条件

ヒトに感染し、増殖する。培養細胞でも、ヒト由来の細胞でのみ効率よく増殖する。サ

ル由来培養細胞で低レベルの増殖が起こる。経口感染することから推定されるように、室温で比較的安定である。

(3) 捕食性又は寄生性

自然界では、ヒトでのみ増殖を伴う感染が起こる。

(4) 繁殖又は増殖の様式

Ad5 は、ヒトに経口感染し、増殖したウイルスは便と共に排泄される。

(5) 病原性

Ad5 の感染は不顕性に終わることが多いが、4 歳以下の乳幼児では急性熱性咽頭炎となる場合もある。いずれの場合も感染後に産生される中和抗体で再感染は阻止される。リンパ節に潜伏する例や小児の腸重積症に関わる可能性も指摘されている。

(6) 有害物質の産生性

Ad5 の感染で細胞内に産生されるたん白質等の毒性は報告されていない。

(7) その他の情報

物理的不活化法として Ad5 は 56℃、30 分の加熱で感染性を失う（文献 4）。また化学的不活化法として用いる消毒薬としては以下のものを含む：塩素系漂白剤（たとえば次亜塩素酸ナトリウム）、グルタルアルデヒドなど（文献 5）。特に次亜塩素酸ナトリウムはごく低濃度においても細菌に対して速効的な殺菌力を発揮し、またウイルスに対する効力の面でも最も信頼のおける消毒薬である。0.1%～1%の高濃度であれば結核菌を殺菌することもでき、この濃度においては高水準消毒薬に分類される（文献 6）。

文献 4 : Bardell, D.: J. Clin. Microbiol. 4: 322-325 (1976)

文献 5: APIC guidelines for infection control practice

(<http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds3e-eng.php>)

文献 6: http://www.yoshida-pharm.com/text/05/5_2_3.html

II 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

1 供与核酸に関する情報

(1) 構成及び構成要素の由来

ヒト REIC/Dkk-3 をコードする DNA (REIC/Dkk-3 遺伝子; 1053bp) 及び CMV プロモーターを宿主に導入した (供与核酸の全塩基配列及び対応するアミノ酸配列などは別紙 1)。

(2) 構成要素の機能

CMV プロモーターは REIC/Dkk-3 遺伝子のみを転写させることになるため、REIC/Dkk-3 遺伝子が発現される。発現する REIC/Dkk-3 タンパク質は分子量約 60kDa の糖蛋白質で、N 末端に 1 つのシグナルペプチドとシステインドメイン、coiled-coil ドメインをそれぞれ 2 つずつ有する 350 のアミノ酸より構成される。REIC/Dkk-3 は Dkk ファミリーと呼ばれる分泌型蛋白群の一種で、Dkk ファミリーには Wnt 受容体を介して Wnt シグナル伝達を阻害する作用があることが知られている。REIC/Dkk-3 は腫瘍特異的細胞アポトーシスを誘導する機能を有していると考えられており、その機序として、c-Jun-N-terminal kinase (JNK) を活性化することでの、Bax のミトコンドリアへの移行促進作用が考えられている (文献 7)。また遺伝子導入により産生された蛋白によるヒト正常細胞 (線維芽細胞、前立腺間質細胞、前立腺上皮細胞、臍帯静脈内皮細胞、気道上皮細胞、肝細胞、腎近位尿管細胞) への障害性は認めていない (文献 7, 未発表データ)。これらの供与核酸の導入によって、Adv/hREIC の感染性がヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) から変わることはないと考えられる。また、Adv/hREIC にはアデノウイルスが増殖するために不可欠である E1 遺伝子及び E3 遺伝子が含まれないため、Adv/hREIC に増殖性はないと考える。

文献 7: Abarzua F., et al.: Cancer Research 65:9617-9622, 2005

2 ベクターに関する情報

(1) 名称及び由来

Adv/hREIC アデノウイルスベクターは REIC/Dkk-3 組換え Adeno-X プラスミド DNA (pAdeno-X/REIC) より作製される。この pAdeno-X/REIC は CMV プロモーターの転写制御下にあるヒト REIC 遺伝子を発現させるプラスミドである。pAdeno-X/REIC をヒト胎児腎由来 293 細胞に感染させ、最終的な遺伝子組換えアデノウイルスベクター Adv/hREIC が生成される (ベクターの構造は別紙 2)。

(2) 特性

プラスミド pAdeno-X/REIC はアンピシリン耐性遺伝子を有する。

3 遺伝子組換え生物等の調製方法

(1) 宿主内に移入された核酸全体の構成

ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) の E1 領域を供与核酸と置換した (Adv/hREIC の構造概略図は別紙 2 参照)。

(2) 宿主内に移入された核酸の移入方法 (別紙 2 の各図を参照)

REIC/Dkk-3 発現 Adeno-X プラスミド DNA (pAdeno-X/REIC) を作成するために、まず REIC/Dkk-3 遺伝子を pShuttle ベクター (Clontech 社製) 中にクローニングし、哺乳類細胞用のカセットを構築した。これを大腸菌 DH5α に導入し、カナマイシン耐性クローンから抽出したプラスミドの塩基配列の解析を行い、インサートの配列に変異が入っていないことを確認した (pShuttle/REIC)。次に、pShuttle/REIC から REIC/Dkk-3 発現カセットを組換え、REIC/Dkk-3 発現 Adeno-X プラスミド DNA を構築した。上記の段階で作製した pShuttle/REIC を PI-SceI、I-CeuI にて消化し、REIC/Dkk-3 発現カセットを調整し、PI-SceI、I-CeuI にて消化した BD Adeno-X viral DNA (Clontech 社製) とライゲーションした。そのライゲーション産物を SwaI で消化し、大腸菌 Stable2 (Invitrogen 社製) に導入し、アンピシリン耐性クローンから抽出したプラスミドの塩基配列の解析を行い、インサートの配列に変異が入っていないことを確認した。以上により、REIC/Dkk-3 発現 Adeno-X プラスミド DNA (pAdeno-X/REIC) が作成された。さらに Adv/hREIC を作成するために、この構築した REIC/Dkk-3 組換え Adeno-X プラスミド DNA を、ヒト HEK293 細胞にトランスフェクションすることによって Adv/hREIC 組換えアデノウイルスを作製した。以上の操作により、全長のヒト REIC/Dkk-3 遺伝子がアデノウイルス内に移入された。

(3) 遺伝子組換え生物等の育成の経過

Adv/hREIC はヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) の E1 ならびに E3 領域を欠失している。E1 領域に含まれる E1A 及び E1B 遺伝子の産物はウイルス DNA の複製に必要なので、これらの遺伝子を継続的に発現している 293 細胞を使って増殖させる。本臨床研究で用いられる Adv/hREIC の最終製品は、(株) 桃太郎源社が製造委託した、米国ベイラー医科大学 細胞・遺伝子治療センター (Houston, Texas 州) で製造された製剤を使用する予定である。凍結した状態で日本へ輸送した最終製品は、岡山大学病院新医療研究開発センターの探索的医薬品開発室 (P2 レベル) において保存され、受入れ試験が実施される (受入れ試験の詳細は別紙 3)。

具体的には、最終製品は岡山大学病院中央診療棟 5 階新医療研究開発センターの探索的医薬品開発室のベクター保存室内のディープフリーザー内に保管される (当該治療施設の地図及び保管場所の概略図は別紙 4)。

4 移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

移入した核酸は Adv/hREIC の 2 本鎖 DNA ゲノムの一部として存在し、保管中は極めて安定で、感染する動植物等の種類及び感染様式が保管中に変化することはない。細胞に感染すると、Adv/hREIC のゲノムは核内の染色体外に存在し、REIC/Dkk-3 遺伝子が転写される。すなわち、REIC/Dkk-3 遺伝子の発現は一過性である。

5 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

Adv/hREIC は宿主のヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) に存在しない REIC/Dkk-3 遺伝子を含むので、REIC/Dkk-3 遺伝子 DNA の一部を PCR で増幅、定量する方法で Adv/hREIC を検出できる。先行した Adv/HSV-tk を用いた前立腺癌遺伝子治療臨床研究 (岡山大学実施) におけるアデノウイルスベクターの血中、尿中の検出結果 (感度 100 コピー/μg) では、アデノウイルスベクター投与後血中では翌日、尿中では 2 日目に全例測定感度以下になっている (文献 8)。なお、投与前は全例測定感度以下であった (論文未発表)。Real-time PCR 法を用いた方法であり臨床応用性を含めた信頼性も実証された。さらに、現在、岡山大学で実施をされている Adv-CAG-hREIC (CAG プロモーターを含む Adv-hREIC) を用いた前立腺癌遺伝子治療臨床研究では、Adv-CAG-hREIC の腫瘍内局所投与が行われた計 20 名の患者 (平成 25 年 7 月 31 日現在) において、Adv-CAG-hREIC の投与後血中では翌日に、尿中では 3 日目に全例測定感度以下になっている (論文未発表)。悪性胸膜中皮腫の患者を対象とした本臨床研究でも、Adv/hREIC の腫瘍内局所投与を含む同様の投与手法を採用するが、類似した結果が予測される。

文献 8 : Nasu, Y, et al.: Molecular Therapy. 15: 834-840 (2007)

6 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

Adv/hREIC はヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) の E1 領域の遺伝子を欠失しているため、これらの領域にコードされているウイルス蛋白質群を発現できない。E1 領域に含まれる E1A 及び E1B 遺伝子から作られる蛋白質はウイルス DNA の複製に必要なため (文献 1、2)、E1A 及び E1B 遺伝子を持続的に発現している細胞 (例えば 293 細胞) や Ad5 と共感染した細胞でなければ Adv/hREIC の増殖は起こらない。また、Adv/hREIC では外来 CMV プロモーターから転写される REIC/Dkk-3 遺伝子が発現することになる。これらの点を除くと、Adv/hREIC の感染する動植物等の種類、感染経路、伝搬様式等は野生型 Ad5 とまったく同等である。Adv/hREIC 由来の RCA は、ヒトや動植物等への感染性、感染様式、病原性など、生物多様性に影響を与える性質は野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

III 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

1 使用等の内容

治療施設におけるヒト遺伝子治療を目的とした使用、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

2 使用等の方法

治療施設の所在地 岡山県岡山市北区鹿田町二丁目5番1号

治療施設の名称 岡山大学病院

- (1) Adv/hREIC 溶液は、容器に密封後、凍結状態で治療施設に輸送し、施設内の P2 レベルの実験室（以下「P2 実験室」という。）内の冷凍庫に保管する。
- (2) 凍結状態の Adv/hREIC 溶液の融解、希釈及び分注操作は、P2 実験室内の安全キャビネット内で行う。Adv/hREIC 希釈溶液の保管は、P2 実験室内の冷凍庫において行う。なお、Adv/hREIC 希釈溶液又はその凍結品を開放系区域を通して他の P2 レベル区域に運搬する必要がある場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (3) Adv/hREIC 溶液（希釈溶液を含む。）を廃棄する際には、ウイルス不活化（0.18%もしくは 0.24%次亜塩素酸ナトリウム溶液による消毒薬（以下「消毒薬」という）または高圧蒸気滅菌処理による。以下同じ。）を行った後、本施設で定められている医療廃棄物管理規程（以下「医療廃棄物管理規程」という。）に従い廃棄する。
- (4) P2 実験室内の安全キャビネット内で Adv/hREIC 溶液を緩衝液で希釈し所定の投与量に調整（以下「Adv/hREIC 液」という）した後、二重に密閉し、治療室である総合診療棟 IVR-CT 室（以下「CT 室」という。）に直ちに運搬し、専用の注入用穿刺針、注射器及びチューブからなるデバイス（以下「注入セット」という。）に充填する。
- (5) 悪性胸膜中皮腫に罹患した被験者に対する Adv/hREIC の投与は、総合診療棟 IVR-CT 室内において、Adv/hREIC 液をあらかじめ留置している胸腔内チューブ又は CT ガイド下に注入用穿刺針を用いて、胸水貯留を認める胸腔内、あるいは評価可能な 1 病変部に注入することにより行う。注入針の抜去は慎重に行い、Adv/hREIC 液の漏出及びエアロゾル化を防止する。注入部位の周辺には敷布（滅菌された不織布）を二重に敷き詰める。
- (6) 被験者への Adv/hREIC 投与終了後、被験者の創部を消毒する。ウイルス漏出予防のためにマスク及びガウンを着用した被験者を、CT 室から、環境中への拡散防止措置を適切に執った陽圧でない個室（以下「個室」という。）に移送する。
- (7) 上記(5)及び(6)で用いた注入セット等の器具並びに布及びガーゼ類は、ウイルス不活

化を行い、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。また、穿刺用ガイド装置等は、ウイルス不活化を行い、再利用する。これらのウイルス不活化を CT 室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。治療後の当該治療室は床を消毒液で掃き清掃する。なお、治療室内の空気は HEPA フィルターを用いた換気により約 5 分に 1 回（1 時間に 12 回）入れ替わる。

- (8) Adv/hREIC 溶液の投与後 24 時間まで、被験者を個室内で管理する。また、Adv/hREIC 溶液を胸腔内に注入する際に胸腔内カテーテルチューブを挿入した場合はその抜去後 24 時間まで、又は、被験者より排出された胸水中の Adv/hREIC が陰性であることが確認できるまで、被験者を個室内で管理する。検査等の理由で被験者が一時的に個室から外の開放系区域に出る場合には、採血や排泄等を最小限に留め、マスク及びガウン着用等のウイルス漏出予防措置を義務付ける。
- (9) 個室における管理期間中の被験者の排泄物（血液、体液、尿及び糞便等）は、ウイルス不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄する。ウイルス不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。なお、研究用検体として使用する被験者の排泄物等の取扱いは、Adv/hREIC 溶液の取扱いに準ずる。排泄物等が床等に落下した場合は床を消毒液で掃き清掃する。
- (10) 個室における管理期間中、被験者に対して侵襲的に使用した器具等及び被験者の排泄物等に接触した器具等は、ウイルス不活化を行った後、医療廃棄物管理規程に従い廃棄又は十分洗浄する。ウイルス不活化を個室以外の区域で行う場合には、二重に密閉した容器に入れて運搬する。
- (11) 個室における被験者の管理を解除する前に、被験者の血液及び尿中の Adv/hREIC が陰性であることを確認する。Adv/hREIC が確認されたときは、個室における被験者の管理を継続する。また排泄物等の床等への落下の有無にかかわらず、個室における管理終了後は床を消毒液で掃き清掃する。
- (12) 個室における被験者の管理の解除後に、遺伝子治療臨床研究実施計画書（悪性胸膜中皮腫に対する Reduced Expression in Immortalized Cells/Dickkopf-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床研究）に示す観察期間内に被験者の血液又は尿中から Adv/hREIC が検出された場合には、直ちに被験者を個室における管理下に移し、上記(8)から(11)までと同様の措置を執る。

3 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

被験者への Adv/hREIC 投与後、被験者体内で増殖能を獲得した遺伝子組換えウイルス（RCA）の有無については、血液及び尿を用いて PCR 法にて検査し、検出された場合は消失するまで、被験者を個室管理下に移して追跡する。

4 生物多様性影響が生じるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

Adv/hREIC 投与後の被験者については、個室管理下、PCR 法にて血液及び尿中の遺伝子組換えウイルス (Adv/hREIC) が消失するまで追跡する。管理中は排泄物が床等に落下した場合は床を消毒液で掃き清掃する。また落下の有無にかかわらず、個室における管理終了後は床を消毒液で掃き清掃する。

5 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

Adv/hREIC と同様に非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型の構造をもち、マウスインターロイキン-12 (mIL-12) 遺伝子を発現する Adv/mIL-12 ベクターの溶液を前立腺癌マウスモデルに投与した動物実験では、マウス血清中の mIL-12 レベルは投与翌日にピークとなり (15000 pg/ml)、投与 3 日後にはベクター投与前のレベルに低下した。mIL-12 の上昇後に脾臓の重量は増加したが mIL-12 レベルの低下に伴い脾臓の重量は正常に戻った。一過性の mIL-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 (文献 9)。Adv/mIL-12 の消長及び体外への排出については詳細が不明であるが、同じくヒトアデノウイルス 5 型の E1 領域を単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子に置換した非増殖性アデノウイルスベクターである Adv.RSV-TK を用いたマウスモデルの動物実験では、ベクター注入 1 週間後、ベクター DNA は尿、精液及び精子には認めず、血中にはマウス 40 匹中 1 匹のみに認めた。ベクターの広がりには前立腺、精囊、精巣、骨盤リンパ節、消化管及び肝において観察された (文献 10)。

岡山大学病院において、2001 年以後に前立腺癌に対する Adv.RSV-TK 及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究を行い、9 例 (2 例は同一症例) の前立腺がん患者に Adv.RSV-TK の投与を行った (文献 8)。また、2008 年以降に前立腺癌に対する Adv/IL-12 を用いた遺伝子治療臨床研究を行い、6 例の前立腺癌患者に Adv/IL-12 の投与を行った。投与後の被験者の血液、尿中の Adv.RSV-TK および Adv/IL-12 の有無を PCR 法により検査したところ、血液中へのアデノウイルスベクターの移行は低用量群においては認められず、中用量群において投与後 30 分をピークに認められたが翌日には消失した。尿中への移行は投与直後において認めたが多くの場合は 2 日目に消失した。さらに、現在、岡山大学で実施をされている Adv-CAG-hREIC (CAG プロモーターを含む Adv-hREIC) を用いた前立腺癌遺伝子治療臨床研究では、Adv-CAG-hREIC の腫瘍内局所投与が行われた計 20 名の患者 (平成 25 年 7 月 31 日現在) において、Adv-CAG-hREIC の投与後血中では翌日に、尿中では 3 日目に全例測定感度以下になっている (論文未発表)。被験者

の個室管理期間中の医療従事者や被験者の家族等面会者の健康状態からみて、Adv.RSV-TK、Adv/IL-12 および Adv-CAG-hREIC の環境中への放出及び医療従事者や面会者への感染は認められていない。

文献 9 : Nasu, Y., et al.: Gene Ther. 6: 338-349 (1999)

文献 10 : Timme, T. L., et al.: Cancer Gene Ther. 5: 74-82 (1998)

6 国外における使用等により得られた情報

本申請の Adv/hREIC については、国外における使用の報告はない。Adv/hREIC と同様に非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型の構造をもつ、Adv.RSV-TK 及び Adv/IL-12 については、前立腺癌における国外での使用が実施されており、以下に示す。

1996 年 8 月より、放射線治療後の局所再燃がんに対する Adv.RSV-TK 及びガンシクロビルの併用療法の第 I 相臨床試験が米国 Baylor 医科大学で実施された。当該試験において Adv.RSV-TK を前立腺巣内に局所内投与された 18 名の患者の尿を検体として、PCR 法によるアデノウイルス DNA の確認が行われた。Adv.RSV-TK 投与後、尿中にはアデノウイルス DNA が、症例により差はあるが、0~32 日間（平均 6.8 日間）検出された（文献 11）。

また、悪性胸膜中皮腫の遺伝子治療に関しては Adv/hREIC と同様に非増殖性の遺伝子組換えヒトアデノウイルス 5 型の構造をもつ、Adv/TK もしくは Adv/IFN-beta の使用が実施されている。以下にその概要を示す。

- ① HSV-tk による遺伝子治療の臨床第 1 相試験は 1995 年 11 月から開始された。HSV-tk 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクターを 1 回、胸腔内に直接投与し、その後ガンシクロビルの全身投与を行った。21 人の未治療の悪性中皮腫患者に対して投与するウイルス量を約 3 倍ずつ上げ、 5.0×10^{13} vp まで達したが、重篤な副作用は認めず、最大耐量には達しなかった[一過性リンパ球減少 (grade 4) 1 例、肝機能異常 (grade 3) 1 例、その他、軽度の一過性の発熱、低酸素血症)、低血圧)、肝機能異常、低酸素血症など]。抗腫瘍効果としては 21 例中 18 例が効果を判定するのに十分な期間を得ており、うち 3 例が 1998 年 2 月の段階で画像上腫瘍の進行を認めなかった。その後、HSV-tk 遺伝子治療はステロイドを追加した投与法に変更し 5 名の患者に施行、また、1998 年 6 月からは単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ遺伝子はそのままだウイルスの他の構造をより安全に変更したウイルスベクターを用いて (E1/E3 欠失ウイルスから E1/E4 欠失ウイルスへ変更) 8 例に治療を行った。すなわち、合計 34 名の患者に HSV-tk 遺伝子が組み込まれているアデノウイルスベクターが投与された。追加の症例においても重篤な副作用は認められなかった。この追加症例のうち 2 例において 6.5 年以上の長期生存を認めている (2005 年論文発表時)。(文献 12)

② IFN-beta を組み込んだアデノウイルスベクターによる悪性胸水例に対する遺伝子治療の臨床第1相試験が2003年8月から開始された。投与は、胸腔内投与1回であり、悪性胸膜中皮腫7例、悪性胸水を伴う非小細胞肺癌2例、卵巣癌1例に行われた。投与開始量である 9.0×10^{11} vp では重篤な副作用は認められなかったが、1段階投与量を上げたウイルス量の 3.0×10^{12} vp では4例中2例で重篤な低酸素血症 (grade 3)、肝機能障害 (grade 3) をそれぞれ認めた。低酸素血症を認めた症例は併存疾患として慢性心不全を伴う症例であり、肝機能障害を認めた症例は、以前、悪性リンパ腫のため腹部に放射線治療の既往がある症例であった。この結果、最大耐量は 9.0×10^{11} vp と決定された。悪性胸膜中皮腫7例の治療効果に関しては、投与後60日のCTの評価において4例で腫瘍の大きさは変わらず、3例で腫瘍の増大を認めた。またPET検査では3例で不変、1例でFDGの取り込みの低下を認めた。生存に関しては研究が発表された2007年時点で、生存例は3例(34ヵ月、32ヵ月、26ヵ月)であった。(文献13)

文献11 : Herman, J. R., et al.: Human Gene Ther. 10: 1239-1249 (1999)

文献12 : Sterman, D.H., et al.: Clin Cancer Res 11, 7444-7453 (2005)

文献13 : Sterman, D.H., et al.: Clin Cancer Res. 13, 4456-4466 (2007)

IV 生物多様性影響評価

1 他の微生物を減少させる性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA の感染性は野生型ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) と同一と考えられるので、微生物に感染せず、また、競合、有害物質の産生により他の微生物を減少させることはないと考えられる。よって、影響を受ける可能性のある微生物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(該当せず。)

(3) 影響の生じやすさの評価

(該当せず。)

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、他の微生物を減少させる性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

2 病原性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA の感染性は野生型ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒトのみである (文献 1、2)。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv/hREIC が感染したヒトで一過性に REIC/Dkk-3 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの病原性は知られていない。Adv/hREIC 由来 RCA の病原性は、野生型 Ad5 と同等であると考えられる。

なお、Ad5 を宿主とする遺伝子治療用ウイルスベクター (遺伝子組換え生物等) は 1990 年以後、国内外で汎用されているが (文献 11)、環境への悪影響に関する報告はない。1999 年に初めて遺伝子治療薬の投与に起因する死亡例が、当該ベクターを用いた米国での遺伝子治療臨床研究において発生したが、その後の調査研究により、当該事例は、ベクター大量投与の結果、循環血中に漏れ出たベクターのウイルス蛋白により引き起こさ

れた全身的免疫反応に起因するものであることが明らかにされている（文献 14）。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA の環境中への拡散は極めて微量である。Adv/hREIC は増殖能を失っているため、野生型アデノウイルスとの共感染がないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、Adv/hREIC が効率よく感染する対象はヒトに限られること（文献 1、2）を踏まえると、Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA が被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて少ないと考えられる。実際に、現在、岡山大学で実施をされている Adv-CAG-hREIC（CAG プロモーターを含む Adv-hREIC）を用いた前立腺癌遺伝子治療臨床研究では、Adv-CAG-hREIC の腫瘍内局所投与が行われた計 20 名の患者（平成 25 年 7 月 31 日現在）において、Adv-CAG-hREIC の投与後血中では翌日に、尿中では 3 日目に全例測定感度以下になっている（論文未発表）。被験者の個室管理期間中の医療従事者や被験者の家族等面会者の健康状態からみても、Adv-CAG-hREIC 及び当該ウイルスベクター由来 RCA の環境中への拡散は極めて微量であり、これらのウイルスが被験者以外のヒトに対して病原性を示す可能性は極めて少ないと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、病原性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

文献 14：Assessment of adenoviral vector safety and toxicity: report of the National Institutes of Health Recombinant DNA Advisory Committee Human Gene Therapy 13:3-13 (2002)

3 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Adv/hREIC の有害物質の産生性は知られておらず、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

（該当せず。）

(3) 影響の生じやすさの評価

（該当せず。）

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、有害物質の産生性について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

4 核酸を水平伝達する性質

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA の感染性は野生型ヒトアデノウイルス 5 型(Ad5)と同一と考えられるので、自然界で感染する対象はヒトのみである(文献 1、2)。

(2) 影響の具体的内容の評価

Adv/hREIC が感染したヒトで一過性に REIC/Dkk-3 遺伝子を発現する可能性はあるが、これによるヒトへの核酸の水平伝達は知られていない。

また、Adv/hREIC 由来の遺伝子組換え生物に該当する RCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する性質は野生型 Ad5 と同等である。

(3) 影響の生じやすさの評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、Adv/hREIC 及び Adv/hREIC 由来 RCA の環境中への拡散は極めて微量である。Adv/hREIC は増殖能を失っているため、被験者に野生型アデノウイルスが共感染しないかぎり、環境中で増殖することはない。さらに、Adv/hREIC が効率よく感染する対象はヒトに限られること(文献 1、2) 及びヒト体内の同一細胞に Adv/hREIC 及び野生型アデノウイルスが感染する可能性は極めて低いことも踏まえると、Adv/hREIC はやがて環境中から消滅すると思われる。

また、Adv/hREIC 由来の遺伝子組換え生物に該当する RCA が出現したとしても、核酸を水平伝達する可能性は野生型 Ad5 と同程度であると考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

よって、核酸を水平伝達する性質について、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

5 その他の性質

なし。

V 総合的評価

第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、Adv/hREIC の環境中への拡散は極力抑えられており、拡散したとしても、その量は検出レベル以下であると推定される。また、これまでの動物を用いた予備的実験により、Adv/hREIC による REIC/Dkk-3 遺伝子の一過性発現がヒトに強い病原性を示す可能性は極めて小さいと考えられる。Adv/hREIC が感染する動植物等の種類は野生型ヒトアデノウイルス 5 型 (Ad5) と同等で、ヒトにのみ感染し、自然界で他のほ乳動物、植物及び微生物には感染しないと考えられる。

増殖性ウイルス (RCA) を含む遺伝子組換えアデノウイルスのウイルス増殖能に関して、臨床使用経験に基づいた知見を整理した見解・声明が、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) および、Gene Therapy Discussion Group

(ICH-GTDG) により communication paper として公開されている (別紙5)。すなわち、2004 年 6 月 10 日の ICH-GTDG 会議において、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、報告されている。それによると

- ・ がん患者において、種々の投与経路 (腫瘍内、肝臓内、腹膜内) によって投与を受けた場合でも、RCA に起因する重篤な副作用はみられなかった。
- ・ 環境へのリスクという点に関して、現在用いることのできる最も感度の高い RCA 検出法であるポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) 法によっても RCA の体外への排出は認められなかったことが、データから示唆された。

ゆえに、RCA が製剤中に仮に多量に含まれていたとしても、ウイルスが生体で増殖し副作用を引き起こすこと、および、ウイルスが体外に排出されることが考えにくく、その増殖型ウイルスの当該環境中での増殖能が極めて低いことが示唆される。今回我々が使用する Adv/hREIC における RCA ウイルス出現の頻度については、その製造元である米国ベイラー医科大学 細胞・遺伝子治療センター (Houston, Texas 州) の品質検査において、 3×10^{10} virus particle に 1 個未満であることが、2012 年 6 月 6 日に確定をされている。この 3×10^{10} virus particle に 1 個未満という数値は、前述の ICH-GTDG 会議で報告された臨床研究の RCA 含有量をはるかに下回るものであり、かつ FDA の推奨する RCA 量の許容基準でもある。すなわち、今回の Adv/hREIC 使用において、増殖型ウイルスが仮に申請使用において出現した場合でも、その環境中 (患者生体内および排出後のその周囲の環境) でウイルス増殖することはほぼ不可能であり、その環境下での増殖能は限りなく低いものと考えられる。結論として、ヒト及び他のほ乳動物、植物並びに微生物に新たな影響を与えることはないと考えられ、第一種使用規程承認申請書に記載した遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法によるかぎり、Adv/hREIC 使用により生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断される。

別紙 1: REIC/Dkk-3 遺伝子の構造、REIC/Dkk-3 遺伝子のアミノ酸配列

別紙 2: REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Adv/hREIC) の作製方法、
REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Adv/hREIC) の構造

別紙 3: 受け入れ試験の詳細

別紙 4: 治療施設の地図及び保管場所の概略図

別紙 5: Considerations from the Gene Therapy Discussion Group meeting, June 10, 2004
日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) 遺伝子治療専門家グループ (GTDG)
「見解」

別紙 1

1) REIC/Dkk-3 遺伝子の構造

ヒト REIC/Dkk-3 蛋白コード領域の塩基配列 (1053 base pair) を以下に示す。

```
1 atgcagcggc ttggggccac cctgctgtgc ctgctgctgg cggcggcggt cccacaggcc
61 cccgcgcccc ctccgacggc gacctgggt ccagtcaagc ccggcccggc tctcagctac
121 ccgcaggagg aggccaccct caatgagatg ttccgcgagg ttgaggaact gatggaggac
181 acgcagcaca aattgcgcag cgcggtggaa gagatggagg cagaagaagc tgctgctaaa
241 gcatcatcag aagtgaacct ggcaactta cctcccagct atcacaatga gaccaacaca
301 gacacgaagg ttggaaataa taccatccat gtgcaccgag aaattcaca gataaccaac
361 aaccagactg gacaaatggt ctttcagag acagtatca catctgtggg agacgaagaa
421 ggcaagaagg gccacgagtg catcatcgac gaggactgtg ggcccagcat gtactgccac
481 ttgccagct tccagtacac ctgccagcca tgccggggcc agaggatgct ctgcaccggg
541 gacagtgagt gctgtggaga ccagctgtgt gtctggggtc actgcacaa aatggccacc
601 aggggcagca atgggacat ctgtgacaac cagagggact gccagccggg gctgtgctgt
661 gccttcaga gaggcctgct gttccctgtg tgcacacccc tgcccgtaga gggcgagctt
721 tgccatgacc ccgccagccg gcttctggac ctcatcacct gggagctaga gcctgatgga
781 gccttgacc gatgcccttg tgccagtggc ctctctgcc agccccacag ccacagcctg
841 gtgtatgtgt gcaagccgac ctctgtggg agccgtgacc aagatgggga gatcctgctg
901 cccagagagg tccccgatga gtatgaagtt ggcagcttca tggaggaggt gcgccaggag
961 ctggaggacc tggagaggag cctgactgaa gagatggcgc tgggggagcc tgcggctgcc
1021 gccgctgcac tgctgggagg ggaagagatt tag
```

2) REIC/Dkk-3 遺伝子のアミノ酸配列

以下に上記遺伝子により発現されたヒト REIC/Dkk-3 タンパクのアミノ酸配列を示す。

```
MQRLGATLLCLLLAAVPTAPAPAPTATSAPVKPGPALSYPQEEATLNEMFREVEELVE
DTQHKLRSAVEEMEAEEAAAKASSEVNLANLPPSYHNETNTDTKVGNNTIHVVHREIHK
ITNNQARQMVFSETVITSVGDEEGRRSHECIIDEDCGPSMYCQFASFQYTCQPCRQRM
LCTRDSECCGDQLCVWGHCTKMATRGSNGTICDNQRDCQPGLCCAFQRGLLFPVCIPL
PVEGELCHDPASRLLDLITWELEPDGALDRPCASGLLCQPHSHSLVYVCKPTFVGSRD
QDGEILLPREVPDEYEVGSFMEEVRQELEDLERSLTEEMALGEPAAAAAALLGEEI
```

別紙 2

REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Adv/hREIC) の作製方法

Adv/hREICの製造法は基本的に3段階であり、各段階の動作において配位位置の確認、挿入シーケンスにおける欠損や変異のなきを確認する。

第1段階として、REIC/Dkk-3遺伝子をpShuttleベクター(Clontech社製)中にクローニングし、哺乳類細胞用のカセットを構築した。具体的には、REIC/Dkk-3遺伝子の開始コドン前に XbaI サイトをデザインしたプライマー (XbaI-REIC-F: 5'-GCTCTAGAGCACCATGCAGCGGCTTGGGGCCACCCTGC-3')と、終止コドンの後にKpnI サイトをデザインしたプライマー (KpnI-REIC-R: 5'-GGGGTACCCCCTAAATCTCTTCCCCTCCCAGCAGT-3')を設計した。次に、pTracer/REIC (図1)を鋳型にして、REICのコーディング領域をPCRにより増幅した。PCR条件は、94℃ 1分、62℃ 30秒、68℃ 1分を30サイクルで行った。約1.1kbの増幅産物をゲルから回収し、XbaI、KpnI消化した後、pShuttleベクターへクローニングした。これを大腸菌DH5αに導入し、カナマイシン耐性クローンから抽出したプラスミドの塩基配列の解析を行い、インサートの配列に変異が入っていないことを確認した (pShuttle/REIC、図2)。

第2段階として、REIC/Dkk-3 発現カセットを組換え、REIC/Dkk-3 発現 Adeno-X プラスミド DNA を構築した。第1段階で作製した pShuttle/REIC (10μg) を PI-SceI、I-CeuI にて消化し、REIC/Dkk-3 発現カセットを調整し、PI-SceI、I-CeuI にて消化した BD Adeno-X viral DNA (図3、Clontech 社製)とライゲーションした。そのライゲーション産物を SmaI で消化し、大腸菌 Stable2 (Invitrogen 社製)に導入し、アンピシリン耐性クローンから抽出したプラスミドの塩基配列の解析を行い、インサートの配列に変異が入っていないことを確認した (pAdeno-X/REIC、図4)。

第3段階として、この構築した REIC/Dkk-3 組換え Adeno-X プラスミド DNA を、ヒト HEK293 細胞にトランスフェクションすることによって組換えアデノウイルスを作製した。REIC/Dkk-3 組換え Adeno-X プラスミドを Pac-I 消化し、線状化した後、Profection® Mammalian Transfection Kit を用いて 293 細胞にトランスフェクションした。37℃、5% CO₂ 条件下で 12~16 時間培養した後、アガロース培地に細胞を播種し、7~10 日間培養を続け、出現したプラークを 6~8 個分離し、-80℃にて保存した。次にプラーク溶液を凍結融解 3 回後、1000rpm、2 分遠心した上清を HEK293 細胞に感染させ、細胞の変性を確認後、細胞を回収した。細胞ペレットを 1mL の 50mM Tris-HCl (pH8.0)にて均一に懸濁し、その一部を用いてアデノウイルスを調整後、DNA を抽出し、挿入配列を確認した。残りの溶液は-80℃保存し、正しい挿入配列をもつクローンを選択後に拡大培養を開始した。凍結融解 3 回後、HEK293 細胞に感染させ、細胞の変性を確認後、1500rpm、20 分遠心して細胞を回収した。細胞ペレットは 50mM Tris-HCl (pH8.0)にて均一に懸濁し、1 次アデノウイルス感染細胞培養液として-80℃保存した。次にその培養液を用いて、同様の操作でスケールアップを行い、Tris-HCl (pH8.0)にて均一に懸濁した溶液を 2 次アデノウイルス感染細胞培養液として-80℃保存した。その培養液を凍結融解 3 回後、1500rpm、20 分遠心した上清を塩化セシウム密度勾配遠心により精製し、ウイルス液として-80℃凍結保存した。この Ad-CMV-human REIC より、臨床研究において用いられる最終的な組換えアデノウイルスベクター (Adv/hREIC) が作製される。

图 1

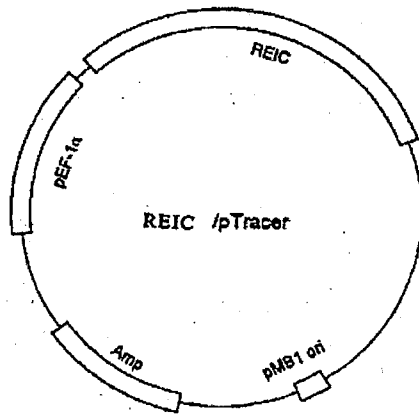


图 2

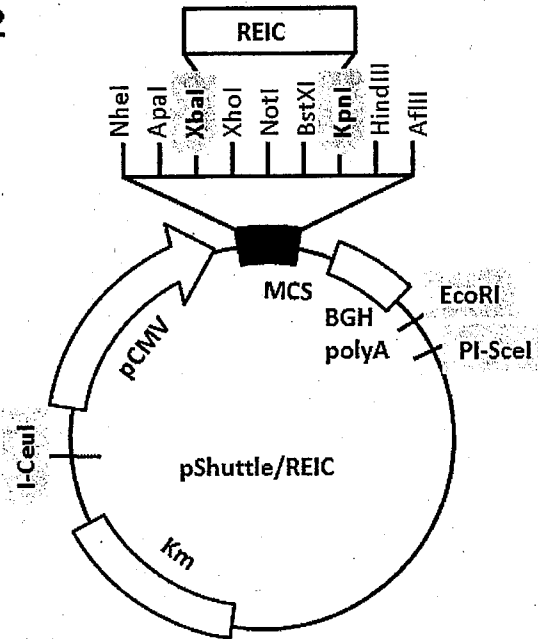


图 3

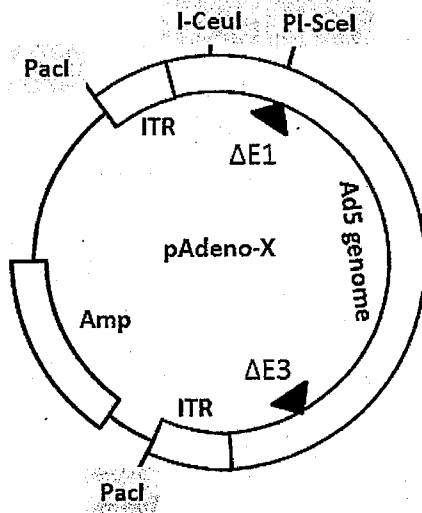
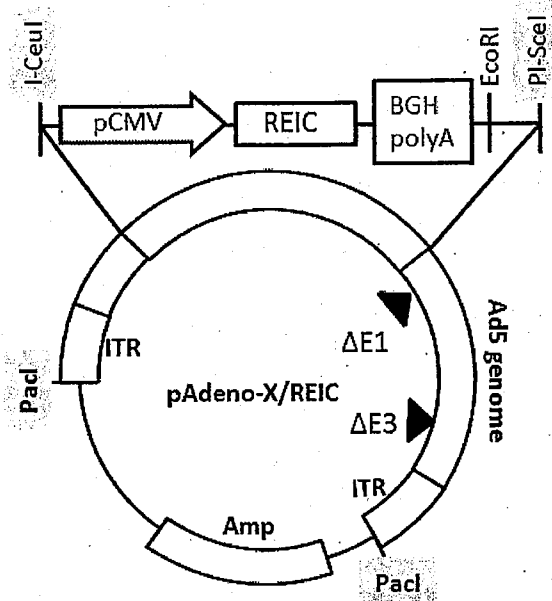
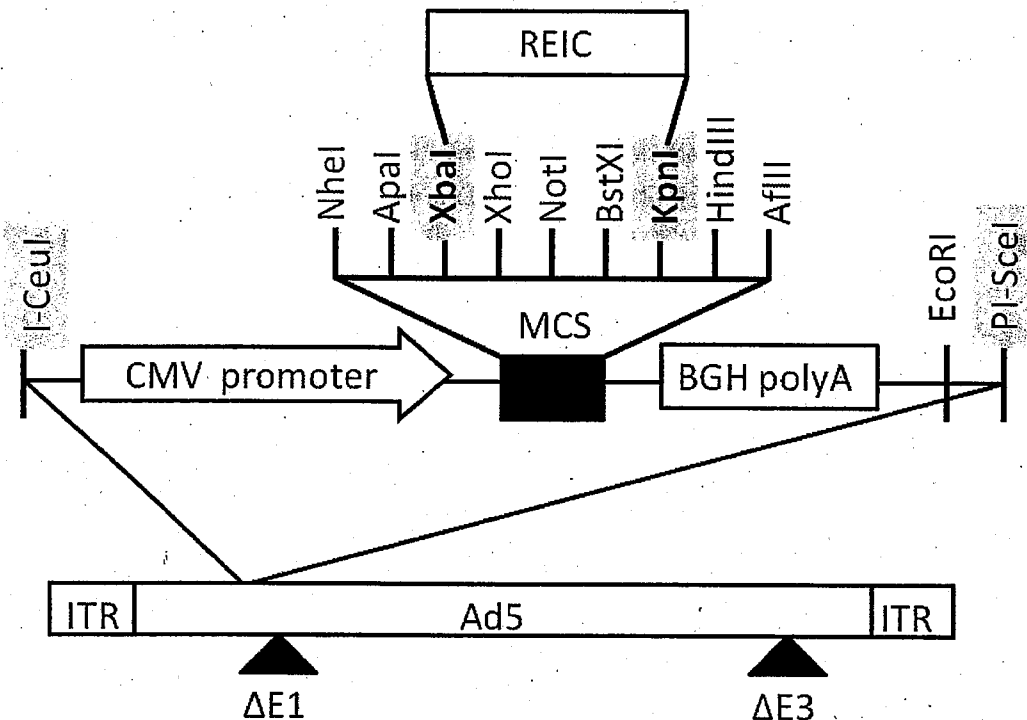


图 4



また、以下に、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Adv/hREIC) の構造を示した。



ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子発現アデノウイルスベクターは、ヒト REIC/Dkk-3 遺伝子全長を pAdeno-X ベクターに挿入した pAdeno-X-REIC を、HEK293 細胞に感染させることにより作成された。すなわち本遺伝子治療臨床研究で用いられるベクターは、上図に示すような E1 および E3 欠損型の非増殖性アデノウイルスベクターである。逆方向反復塩基配列末端 (ITR) は、アデノウイルス DNA の複製に必要不可欠で、E1/E3 を欠損した Ad5 ゲノムを挟んでいる。REIC/Dkk-3 の cDNA は、CMV プロモーター及び BGH ポリ A シグナルとともに組み込まれている。このウイルスベクターは細胞内に侵入し、ウイルスゲノムは核内へと注入されるが、発現すべき E1 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 REIC/Dkk-3 遺伝子のみが発現することになる。

別紙 3

Adv/hREIC 製剤の受入れ試験の詳細

1. 変性の有無を確認する外観試験

- 融解後ベクター液の混濁の有無を肉眼で確認する。混濁が存在した場合は、当該ベクターを使用せず破棄する。

2. ウイルスの力価の測定 Viral particle (VP) concentration

Sample を 2 倍希釈し分光光度計で吸光度 (OD_{260} 値：溶解液のみの吸光度で補正した値) を計測し、下記の数式より VP を求める。尚、吸光度は 6 回計測の平均値とする。

$$VP = \text{平均吸光度 (平均 } OD_{260} \text{ 値)} \times 2 \text{ (希釈率)} \times 1.1 \times 10^{12} \text{ viral particle/ml}$$

製造者により測定された既知の VP 濃度から 25% 以内に維持されていることを使用適格の条件とする。

3. REIC 発現アデノウイルスベクターの生物学的活性を確かめるための試験

培養細胞への遺伝子導入時における REIC タンパク質の産生能や細胞死 (アポトーシスを含む) 誘導能を検定するため、ヒト悪性胸膜中皮腫細胞である 211H 細胞を用いた in vitro functionality assay を行う。

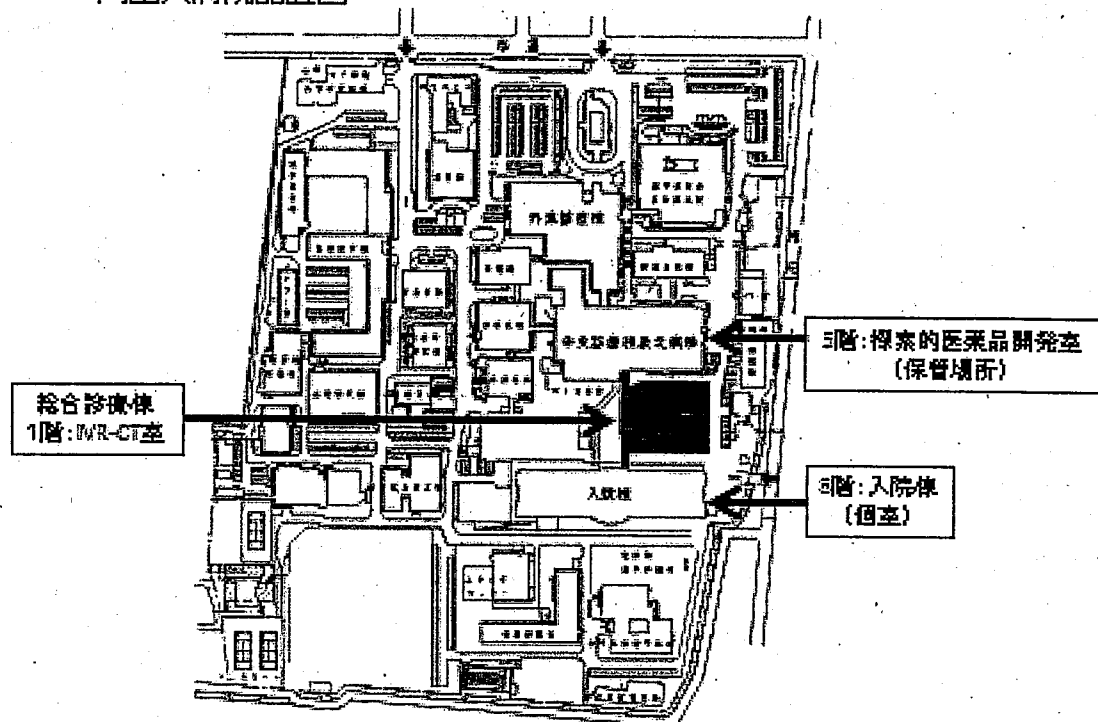
3-a. Adv/hREIC 感染 (100 MOI) 後、24 時間後に 211H 細胞を回収し、細胞内における REIC タンパク質の発現をウェスタンブロット法により確認する。

3-b. Adv/hREIC 感染 (500 MOI) 後 72 時間後に、211H 細胞の細胞死誘導率をヘキスト 33342 による細胞核の染色により測定する。岡山大学において GMP (Good Manufacturing Practice) 基準を満たす Adv/hREIC のウイルスベクターを用いた functionality assay では、感染後の細胞死誘導率は 88.6% であった。受け入れ時に実施した場合の細胞死誘導率が、上記の岡山大学における結果 (細胞死誘導率：88.6%) から 25% 以内に維持されていることを条件とする。

別紙 4

治療施設の地図及び保管場所の概略図

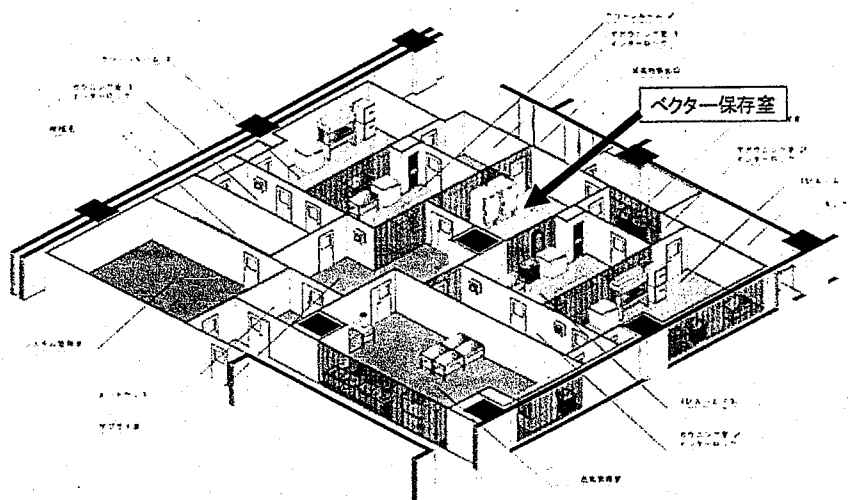
岡山大病院配置図



アデノウイルスベクターの保管・調剤の場所

岡山大学病院中央診療棟 5 階 新医療研究開発センター（探索的医薬品開発室）

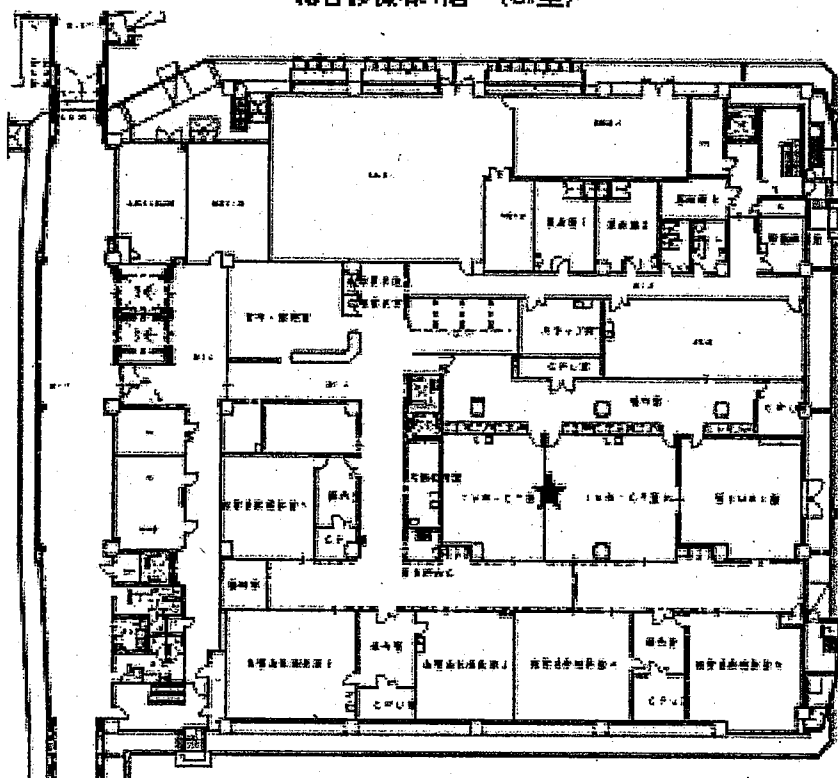
岡山大学病院 新医療研究開発センター（探索的医薬品開発室）



アデノウイルスベクター注入場所

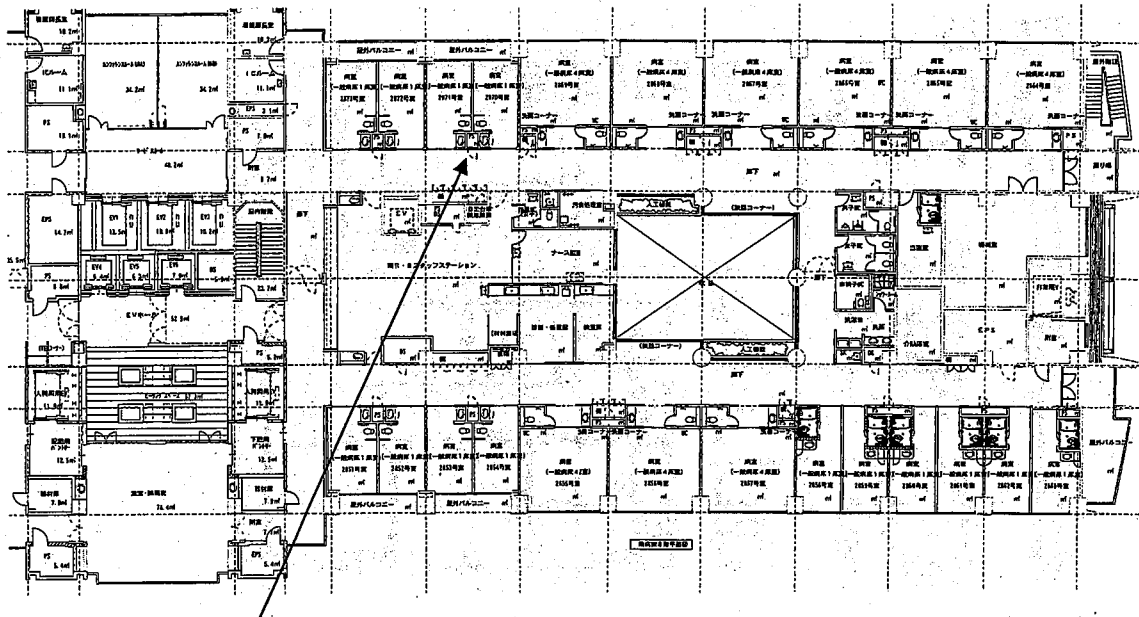
1) 岡山大学病院 総合診療棟 IVR-CT 室

総合診療棟1階 (C1室)

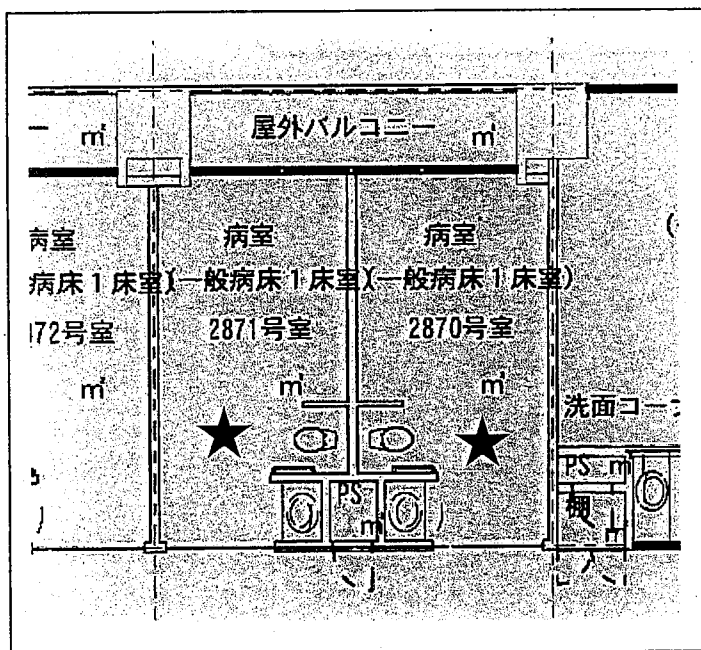


患者の管理場所（個室）

入院棟 東8階 外科病棟 重症個室 2870号、2871号室



患者の管理場所



別紙 5 :

Considerations from the Gene Therapy Discussion Group meeting. June 10, 2004

**Considerations from the Gene Therapy Discussion Group meeting
June 10, 2004
(Revised in February 2005*)**

The scope of the meeting included an update on new gene therapy developments in the regions and an exchange of information on the main topics agreed upon during the 2003 meeting of the ICH GT discussion group (GTDG). The group also discussed organisational matters relevant to future activities in 2005 and 2006. Representatives from the three ICH regions (including experts from regulatory authorities and industry), Health Canada and EFTA participated.

Update on SCID gene therapy

Updates on the experience in the regions were provided. Some documented clinical benefits are now available, such as those seen in the X1-SCID and ADA/SCID clinical trials. Encouraging preliminary results are being generated in clinical trials in Graft Versus Host Disease (GVHD) as well.

The group discussed and agreed on general risk factors:

- Subject age
- Copy number/integration events per cell >1 (on average)
- Dose (total number of transduced cells)
- Relative risk associated with transduced cell populations (most to least):
 - Stem cells with expected selective advantage
 - Stem cells
 - T cells or other differentiated cells

New technologies to assess the risks of insertional oncogenesis are being developed and appear to be useful for clinical research purposes but have not yet been validated. LAM PCR is widely used but since it is not yet validated the use of more than one test could be called for. Dominant bands vary during the disease and do not provide the basis for therapeutic decision-making. If cell clonality trend is detected with a combination of reliable traditional methods, patients should be monitored more often.

The GTDG considered scientifically justified using a combination of methods to improve surveillance for cell clonality as a tool of clinical management. The group also considered valuable the sample archiving for further scientific purposes, as new methods are still in development.

Long-term follow-up (LTFU) of participants in gene therapy clinical trials

FDA presented their current recommendations and background on long-term follow-up of participants in GT clinical trials. All GT trials should have a plan for LTFU for up to 15 years. Data collection should include

- De novo* cancer
- Neurologic disorders*
- Rheumatologic disorders
- Immunological/haematological disorders

* **Considerations** : In order to avoid confusion with the M2 ESTR1 Recommendations that follow the step-wise ICH process, the ICH Steering Committee requested that the outcome of GTDG discussions should now be called "Considerations", rather than "Recommendations".

Physical examinations should be carried out for the first 5 years, followed by a questionnaire for the years 6 to 15 (questionnaire should be kept simple)

This observational information should be collected and submitted annually with the purpose of assessing long term risks for patients involved in GT clinical trials.

The group considers that GT LTFU should be included in the ICH GTDG program in view of the specific features of Gene Therapy that would complement ICH E1 and other Pharmacovigilance documents under development.

HIV vaccination in healthy volunteers: possible risks

The GTDG discussed a number of issues related to the exposure of healthy volunteers to HIV vaccines based on gene therapy products:

- Potential risks related to the manufacturing strategy of vaccinia-derived vectors (e.g., production in primary chicken embryo fibroblasts which could be a source of retroviral sequences)
- Production in non-diploid cell lines of a number of gene therapy vectors used therapeutically or in a preventive mode
- Risks posed by functional HIV genes included in the vector (such as *env*, *nef*, *tat*)
- Long-term monitoring of healthy volunteers
- Risk-benefit balance for healthy volunteers

In the USA, gene-based vaccines used as preventive medicines are not regulated as gene therapy products. In Japan, such vaccines are not regulated as gene therapy products. In the EU, gene-based vaccines are considered to be gene therapy products as defined by Annex I to Directive 2001/83/EC as amended by Directive 2003/63/EC; the EU therefore will continue to explore these aspects and will report to the GTDG on matters which might be relevant.

Replication competent adenovirus (RCA) in replication deficient adenoviral vectors

The level of RCA depends on the production strategy and the particular cells lines used. The amount detected is higher in batches produced in conventional cell lines (e.g., 293 cells) compared to that found in batches produced in recently engineered cell lines (e.g., PER.C6 cells).

PhRMA presented data obtained in conjunction with the administration of high doses of replication deficient adenovirus vectors containing high quantities of RCA

- No serious adverse events related to the RCA were observed using various routes of administration (intratumoral, intrahepatic, intraperitoneal) in cancer patients.
- With respect to environmental risk the presented data suggest that shedding of RCA has not been detected by PCR, which is the most sensitive currently available assay.

EU requires replication deficient adenoviral vectors containing a specified level of RCA to be demonstrated in pre-clinical and clinical studies as safe; at present EU does not recommend specific limits, although generally reduction of RCA presence in

vector lots is recommended. The current FDA recommendation is <1 RCA in 3×10^{10} virus particles. Japan evaluates the risks associated with the level of RCA on a case-by-case basis and refers to the FDA recommendations. Health Canada reported that most sponsors have submitted data showing no shedding. Currently Health Canada refers to the FDA RCA limit for their evaluations, but allows some exceptions if not all batches meet the limit.

Consensus was reached that the ICH regions are discouraging high levels of RCA in adenoviral vector batches.

Germline transmission studies

EU presented the discussion held at the CHMP Gene Therapy Expert Group (GTEG) meetings with the goal of developing an addendum to the current GT guideline to assist sponsors and member states. The GTEG wrote a scientific report on a risk assessment approach taking into account a number of factors such as:

- persistence of vector DNA presence
- association with germline cells or other cells (stromal, leukocytes)
- chromosomal integration in germline cells

EU submissions are expected to provide pre-clinical data to show no evidence for risk of inadvertent germline transmission via bio-distribution studies, using good analytical methods.

The regions agreed that bio-distribution studies are important and should be submitted as a part of the clinical development package. The timing for submitting such studies varies by region.

The GTDG considered that it is necessary to continue the discussion with the aim of identifying common principles to minimize the risk of germline transmission.

Future Activities

The next ICH Gene Therapy public workshop will be held in conjunction with the ICH meeting in fall 2005 in USA.

The objectives of the workshops will be to acquire information on the approaches currently being developed with Oncolytic viruses. Issues relevant both to the development of the field and public health will be identified and discussed. The workshop may cover emerging issues including models to study selectivity, attenuation modes, shedding, clinical safety.

The program of the workshop will be further elaborated at the next meeting of the GTDG scheduled to take place in spring 2005.

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) 遺伝子治療専門家グループ (GTDG) 「見解」

この日本語訳は、国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部が参考までに仮訳したものですので、必ず英語原文をご参照ください。

日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) 遺伝子治療専門家グループ (GTDG) 「見解」 [仮訳]

ICH GTDG 会議
2004 年 6 月 10 日
(2005 年 2 月改正¹⁾)

今回の会議では、日米 EU 医薬品規制調和国際会議 (ICH) 各極 (日本、アメリカ合衆国 (米国)、ヨーロッパ連合 (EU)) における遺伝子治療に関する最新情報の紹介、及び 2003 年の ICH 遺伝子治療専門家グループ (GTDG) で合意された主要議題に関する情報交換などが行われた。さらに、今後 2005 年及び 2006 年の活動に関連する体制についても議論された。ICH 3 極の各代表者 (規制当局及び産業界の遺伝子治療専門家を含む) 並びにカナダ保健省及び欧州自由貿易連合 (EFTA)² の各代表者が参加した。

重症複合免疫不全症 (SCID) の遺伝子治療に関する最新情報

今回の会議では、SCID の遺伝子治療に関する各極の最新情報が報告された。

X1 連鎖重症複合免疫不全症 (X1-SCID) 及びアデノシンデアミナーゼ欠損症 (ADA/SCID) の遺伝子治療臨床研究でも実際に示されているように、SCID に対する遺伝子治療の臨床的有用性は既に確認されている。同様に移植片対宿主病 (GVHD) の遺伝子治療臨床研究においても、将来有望な予備的結果が報告されている。

GTDG は SCID の遺伝子治療における一般的リスク要因について議論を行い、以下の点が一般的リスク要因であるという点で合意した。

- ・ 患者の年齢
- ・ 細胞に組み込まれた遺伝子治療用ベクターのコピー数/染色体挿入頻度が、細胞あたり平均 1 を超えること
- ・ 投与量 (患者に投与した遺伝子導入細胞の総数)
- ・ 遺伝子導入細胞の種類に応じた相対的リスクは以下のとおりである (リスクの高い順に)
 - － 選択的優位性をもつと予想される幹細胞 (すなわち、他の幹細胞に比べて増殖能が高い幹細胞)
 - － 幹細胞
 - － T 細胞又は他の既に分化した細胞

染色体へのベクター挿入による発がんのリスクを評価するための新しい技術が開発中である。このような技術は、まだバリデーションはされていないものの、遺伝子治療臨床研究においても有用であるように思われる。現在、LAM PCR (linear-amplification-mediated

¹ 「見解」 ("Considerations")

GTDG 会議での結論は、ICH 内での段階的な手続きを経て定められた M2 ESTR1 (規制情報の電子的伝送の標準) 専門家作業グループの「勧告」 ("Recommendations") との用語の混乱を避けるために、現時点では「勧告」ではなく「見解」と称するよう ICH 運営委員会から求められた。

² 訳注: 現在、ノルウェー王国、スイス連邦、アイスランド共和国及びリヒテンシュタイン公国の 4 カ国が加盟。

この日本語訳は、国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部が
参考までに仮訳したものですので、必ず英語原文をご参照ください。

PCR; 片方向増幅を介するポリメラーゼ連鎖反応) 法が広く用いられている。しかし、LAM PCR 法はまだバリデーションされていない技術であることから、複数の試験による確認が必要となる可能性がある。LAM PCR 法において検出される主要なバンドは疾患の過程でも変化するので、このようなバンドを治療方針決定のための根拠、すなわち白血病等副作用の発現の目安として使うことはできない。遺伝子導入細胞のクローナリティー (クローン¹増殖) の傾向が、従来から用いられている信頼性の高い方法によっても認められた場合には、より頻繁に被験者のモニタリングを行う必要がある。

臨床における副作用発現を未然に防ぐための管理方法として、遺伝子導入細胞のクローナリティーをより高感度でかつより高い信頼性をもって監視するために複数の方法を組み合わせることは、科学的に適切であると GTDG では考えている。加えて、新しい検査方法がまだ開発途上にあることから、将来も必要に応じて科学的検査が行えるよう被験者検体等の試料を保管しておくことも意義があると GTDG では考えている。

遺伝子治療臨床研究に参加した被験者の長期フォローアップ (追跡) 調査

米国食品医薬品局 (FDA) は、遺伝子治療臨床研究に参加した被験者の長期フォローアップ調査について、現在 FDA が推奨している内容及びその背景を説明した。すなわち米国では、①すべての遺伝子治療臨床研究において、被験者の長期フォローアップ調査を遺伝子治療実施後 15 年間は実施するよう計画する必要がある。②その間に収集しなければならないデータとしては、以下の項目が含まれる。

De novo 由来がん²の発症の有無

神経疾患の発症の有無

リウマチ性疾患の発症の有無

免疫性疾患/血液疾患の発症の有無

③遺伝子治療実施後 5 年間は健康診断³ 検査によるフォローアップ調査を、その後 6 年目から 15 年目までは調査票によるフォローアップ調査を実施しなければならない。また、これに用いる調査票の内容は、わかりやすいものに留めておく必要がある。④このフォローアップ調査の結果は、遺伝子治療臨床研究に参加した被験者における長期リスクの評価のために、毎年とりまとめて FDA に報告しなければならない。

遺伝子治療臨床研究の長期フォローアップ調査に際しては、ICH E1 ガイドライン「致命的でない疾患に対し長期間の投与が想定される新医薬品の治験段階において安全性を評価するために必要な症例数と投与期間について」³及び現在作成中⁴の医薬品安全性監視 (ファーマコビジランス) に関連する ICH ガイドライン⁵の内容に加えて、遺伝子治療に特有の事項も考慮する必要があることから、本件については今後 ICH GTDG 内で正式な議題として議論する必要があると GTDG では考えている。

健康な被験者 (ボランティア) への HIV ワクチン投与一可能性のあるリスク

遺伝子治療用ベクターを利用した HIV ワクチンを健康なボランティアに投与することに

¹ 訳注: 単一細胞に由来する細胞集団。

² 訳注: 前がん状態 (ポリープ) を経ないで発生するがん。

³ 訳注: <http://www.nihs.go.jp/dig/ich/efficacy/ela/e01a.html>。

⁴ 訳注: 2004 年 11 月に ICH 3 極合意文書 (英文) が完成。

⁵ 訳注: http://www.ich.org/MediaServer.jserv?@_ID=1195&@_MODE=GLB。

関する以下の諸問題について、GTDG では議論を行った。

- ・ ワクチニアウイルス由来ベクターについて、ベクターの製造方法に関連して生じ得るリスク（例えば、初代ニワトリ胚線維芽細胞を使用して製造を行うことにより、当該細胞からレトロウイルスの塩基配列が混入する可能性がある）
- ・ 治療目的又は予防目的で用いられる遺伝子治療用ベクター¹の製造に非二倍体細胞株を使用することによるリスク
- ・ ベクター（HIV ワクチン）に存在している何らかの機能を有する HIV 遺伝子（例えば *env*、*nef*、*tat*）によってもたらされるリスク
- ・ 健康なボランティアに対する長期のモニタリング
- ・ 健康なボランティアにとってのリスクベネフィットのバランス

米国では、遺伝子をベースとするワクチンは、それが予防目的で使用される限り、遺伝子治療用医薬品としての規制は受けない。日本においても、そのようなワクチンは遺伝子治療用医薬品としての規制は受けない。一方、EU においては、遺伝子をベースとするワクチンは、欧州議会及び理事会指令 2001/83/EC²別添 I における定義（欧州理事会指令 2003/63/EC³により改訂）に基づき、遺伝子治療用医薬品と扱われる。したがって、EU では、健康なボランティアへの HIV ワクチン投与に関するリスクについて調査を継続し、関連する可能性のある問題が発生した際には GTDG に報告することとする。

非増殖性アデノウイルスベクター中の増殖性アデノウイルス（RCA）

非増殖性アデノウイルスベクター中の増殖性アデノウイルス（RCA）の混入量は、ベクターの製造方法及び製造に用いた細胞株の種類に依存する。非増殖性アデノウイルスベクター中に検出される RCA の量は、従来から使用されている細胞株（例えば 293 細胞）によって製造する場合に比べて、遺伝子組換え技術を使って最近開発された細胞株（例えば PER.C6 細胞）によって製造する場合の方が少ない。

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、今回発表された。それによると

- ・ がん患者において、種々の投与経路（腫瘍内、肝臓内、腹膜内）によって投与を受けた場合でも、RCA に起因する重篤な副作用はみられなかった。
- ・ 環境へのリスクという点に関して、現在用いることのできる最も感度の高い RCA 検出法であるポリメラーゼ連鎖反応（PCR）法によっても RCA の体外への排出は認められなかったことが、今回のデータから示唆された。

非増殖性アデノウイルスベクターに混入する RCA 量の許容限度値に関して、EU では、非臨床試験及び臨床試験において安全性が実際に確認されている RCA 量以下であることを求めている。一般的にはベクターに混入する RCA は可能な限り少ないことが望ましいものの、EU では現在のところ公的な許容限度値として特定の数値は示していない。一方、FDA では、RCA 量の許容限度として、現在「 3×10^{10} ウイルス粒子あたり 1 未満」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

¹ 訳注：遺伝子治療用ベクターとして分類される HIV ワクチンも含む。

² 訳注：http://pharmacos.eudra.org/F2/eudralex/vol-1/DIR_2001_83/DIR_2001_83_EN.pdf。

³ 訳注：http://pharmacos.eudra.org/F2/eudralex/vol-1/DIR_2003_63/DIR_2003_63_EN.pdf。

この日本語訳は、国立医薬品食品衛生研究所 遺伝子細胞医薬部が
参考までに仮訳したものですので、必ず英語原文をご参照ください。

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、個別に許容限度値を設定している。カナダ保健省は、製薬企業から提出された大部分のデータにおいて RCA の体外への排出は起きていないと報告した。現在のところカナダ保健省では FDA の推奨する RCA 量の許容限度値を基準として考えているが、実際に製造した一部のロットがそれに適合していなかった場合には、FDA の推奨値を超えた許容限度値を認める場合もあるとのことである。

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 各極は合意に至った。

生殖細胞系列への遺伝子治療用ベクターの伝達に関する研究

EU 域内で治験を実施する者及び EU 加盟国に参考となるような現行の遺伝子治療ガイドライン¹の補遺を作成することを目的として開催された医薬品委員会 (CHMP) 遺伝子治療専門家グループ (GTEG) の会議の内容が EU から発表された。遺伝子治療におけるリスク評価のアプローチ法に関して、GTEG は以下のような点を考慮に入れた科学的な見地からの報告書²を作成した。

- ・ 体内に存在するベクター DNA の持続性
- ・ 生殖細胞系列や他の細胞（間質細胞、白血球）との関連
- ・ 生殖細胞系列の染色体へのベクターの挿入（伝達）

この EU の提案では、適切な分析法を用いた前臨床での動物体内分布試験によって、生殖細胞系列への予期しないベクター伝達のリスクがみられないことを示すことが望ましいとされている。

ICH 各極は、体内分布試験は重要であり、臨床開発の過程で検討されたヒトにおけるベクターの体内分布に関する成績を規制当局に提出する必要がある、という点では合意した。しかしながら、そのような成績を提出すべきタイミングは ICH 各極ごとに異なる。

GTDG は、生殖細胞系列へのベクターの伝達のリスクを最小にするための一般的方策を見いだすために、この件について今後も議論を継続することが必要であると考えている。

今後の活動予定

2005 年秋に米国で開催される ICH 会議に併せて、次回の ICH 遺伝子治療公開ワークショップを開催する予定である。このワークショップの目的は、世界各国で開発が進められている腫瘍溶解性ウイルスについての現状に関する情報を得ることである。ワークショップでは、腫瘍溶解性ウイルス開発の進展状況及び臨床／公衆衛生上の問題の双方に関連するトピックを抽出し、それについて討論を行う予定である。また、腫瘍溶解性ウイルスの標的細胞選択性を調べるための試験系、弱毒化の様式、体内からの排出、臨床的安全性についてなど、新たに生じたトピックもワークショップで扱う予定である。ワークショップのプログラムの詳細は、2005 年の春に開催が予定されている次回の GTDG 会議において協議される予定である。

¹ 訳注: <http://www.emea.eu.int/hums/itf/itfguide.htm>.

² 訳注: <http://www.emea.eu.int/pdfs/human/genetherapy/187904en.pdf>.

参考文献リスト

- 1) Kaibe, D. M., Howley, P. M. ed.: Fields VIROLOGY fourth edition, pp.2265-2326, Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia (2001)
- 2) 畑中正一編: ウイルス学, pp. 198-208, 朝倉書店, 東京 (1997)
- 3) 水田克巳など: 山形県衛生研究所報. 32: 5-7 (1999)
- 4) Bardell, D.: J. Clin. Microbiol. 4: 322-325 (1976)
- 5) APIC guidelines for infection control practice (<http://www.phac-aspc.gc.ca/msds-ftss/msds3e-eng.php>)
- 6) http://www.yoshida-pharm.com/text/05/5_2_3.html
- 7) Abarzua F., et al.: Cancer Research 65:9617-9622(2005)
- 8) Nasu, Y, et al.: Molecular Therapy. 15: 834-840 (2007)
- 9) Nasu, Y., et al.: Gene Ther. 6: 338-349 (1999)
- 10) Timme, T. L., et al.: Cancer Gene Ther. 5: 74-82 (1998)
- 11) Herman, J. R., et al.: Human Gene Ther. 10: 1239-1249 (1999)
- 12) Sterman,D.H., et al.: Clin Cancer Res 11,7444-7453(2005)
- 13) Sterman,D.H., et al.: Clin Cancer Res. 13,4456-4466(2007)
- 14) Assessment of adenoviral vector safety and toxicity: report of the National Institutes of Health Recombinant DNA Advisory Committee Human Gene Therapy 13:3-13 (2002)