

インフォームド・コンセントと患者及びその家族からの同意  
遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

説明日： 200 年 月 日

患者氏名： \_\_\_\_\_

説明医師名： \_\_\_\_\_

## はじめに

これから私たちが、直接あなたに信州大学医学部附属病院で行われる遺伝子治療の臨床研究について説明します。まずはじめに、私たちの研究に参加される場合に、その全ての人に適用される、以下のいくつかの一般的原則を読んで了承されることが必要です。

- (1)この研究に参加されることは、あくまでもあなたの自由意志によるものです。したがっていつでも（たとえ研究の途中であっても）この研究への参加を断ることができます。
- (2)この研究に参加することによって、必ずしも個人的な利益が得られないかもしれません。しかし、ほかの人々やこれからの新しい医療に役立つ知見が得られることでしょう。
- (3)たとえこの研究を断ってもあなた自身がその後の治療で不利益をこうむることはありません。

以下の文章では、この研究の特徴、期待される効果、安全性と危険性、その他の関連した事項が、次頁の目次に従って説明されています。説明の内容を十分理解した上であなたのお考えをお示し下さい。なおあなたが抱かれている疑問については、どんな些細なことでも結構ですので、説明を行う医師にお尋ね下さい。

## 目次

### はじめに

1. 悪性黒色腫とは
2. 悪性黒色腫の治療について
  - (1)現在行われている治療法
  - (2)今後のあなたの治療法
3. 遺伝子治療について
  - (1)遺伝子治療とは
    - ①遺伝子とは
    - ②ベクター（運び屋）とは
    - ③悪性黒色腫に対する遺伝子治療の種類
  - (2)今回の遺伝子治療について
    - ①ヒトβ型インターフェロン遺伝子
    - ②リボソーム
    - ③今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由
4. 具体的な手順について
  - (1)手順
    - ①身体検査
    - ②遺伝子治療の内容
    - ③現時点で想定できる不測の事態
  - (2)遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について
  - (3)遺伝子治療実施後の中止の方法について
5. 効果判定と追跡調査について
6. あなたの保護について
7. 費用について
8. 賠償請求について
9. 問い合わせ先
10. 責任者一覧
11. 書類その他

## 1. 悪性黒色腫とは

人間の皮膚にはメラノサイトというメラニン色素を産生する細胞があり、この細胞ががん細胞へ変化したものが悪性黒色腫という疾患です。がん化してもメラニン色素を産生するため、通常は黒褐色調の病変としてみられます。わが国では、1年間に発生するメラノーマ患者の発生頻度は人口10万人に対しおよそ2人程度です。全身どこの部位の皮膚にも生じますが、日本人ではとくに足底や手足の指の爪などに多くみられます。

## 2. 悪性黒色腫の治療について

### (1)現在行われている治療法

手術療法は最も効果的な治療法であり、腫瘍病変が限局していて、その厚さが薄い場合には切除のみで治癒します。腫瘍が厚くなるとがん細胞が他部位へ移動し、リンパ節や他部位の皮膚やその他の臓器にまで腫瘍病変を生じてきます（これをがんの転移といいます）。こうなると手術療法のみでは対処できなくなります。このような場合、悪性黒色腫は放射線療法に抵抗性であるため、まず抗がん剤による化学療法が考慮されます。しかし、悪性黒色腫に対して効果のある抗がん剤はごく少なく、その効果も一時的で限られたものです。欧米ではインターフェロンやインターロイキン2などのサイトカインと呼ばれる物質も用いられますが、効果はやはりごく限られたものです。また、複数の抗がん剤とインターフェロン、インターロイキン2を併用する生物化学療法により病変の縮小はかなりの率で見られますが、生存期間が延びることは少ないのが現状です。日本では現在、インターフェロン $\beta$ が悪性黒色腫に対して保険適用となっていますが、進行期になるとインターフェロン $\beta$ のみではほとんど効果を期待できません。なお、日本ではインターロイキン2は悪性黒色腫に対して保険適用ではないため、これを用いた治療は事実上不可能です。腫瘍抗原と樹状細胞（免疫反応を引き起こす作用を有する細胞）などを用い、がん細胞への免疫学的攻撃力を高める免疫療法の研究も進んでいますが、まだ実験段階のものです。このように悪性黒色腫に対しては確実に有効な治療法がまだ確立されていないため、新しい治療法の開発が望まれています。

### (2)今後のあなたの治療法

手術とその後に行われる化学療法などによりメラノーマの治療成績は向上しましたが、あなたの場合このような治療法が行われたにも関わらず、再発してきたこと、あるいはこれらの治療の実施が困難な状況にあることから、今後の治療法の選択は大変難しい状況にあります。今後の治療としてあなたが選択できるのは①再手術（再手術の場合は腫瘍の一部を摘出するのみにとどまります。）②各種抗がん剤による追加化学療法などがあります。当施設での経験およびこれまでの国内外からの報告から判断して、以上のいずれの治療法にも大きな効果を期待することは難しいと思われます。

### 3. 遺伝子治療について

#### (1) 遺伝子治療とは

健康なヒトの細胞の中にある遺伝子を一部取り出して加工し、これを患者さんの体内に直接もしくは間接的に投与して治療効果を得ようとする治療法です。直接的投与とは治療のための遺伝子を注射や点滴あるいは噴霧を使って患者さんの体内に投与する方法です。間接的投与とは、患者さんの体からリンパ球やがん細胞などを取り出し、これに治療のための遺伝子を入れて再び患者さんの体内にもどす方法です。今回私たちがお話しする遺伝子治療は直接的投与になります。

#### ①遺伝子とは

遺伝子とは私たちの体を作っているタンパク質の設計図です。その本体は DNA (デオキシリボ核酸) という化学物質で、ヒトの細胞の場合、約 3 万個の設計図があるといわれています。今回の遺伝子治療ではヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子が用いられます。この遺伝子が作り出すヒト  $\beta$  型インターフェロン蛋白は以前よりメラノーマの治療に用いられてきましたが、遺伝子を使うことで蛋白よりもっと効果的な治療効果がえられることが基礎的な動物実験などで確かめられています。

#### ②ベクター (運び屋) とは

遺伝子を細胞に入れるために用いられる遺伝子の運び屋をベクターと呼びます。ベクターにはウイルスベクターと非ウイルスベクターの 2 つがあります。ウイルスベクターとは、治療のための遺伝子を組み込んだウイルスをいいます。もちろん本来のウイルスの持っている病原性はさまざまな方法で弱められていますが、大量に使用したときには問題の起こることが指摘されています。一方非ウイルスベクターとはウイルスベクターの副作用を避けるために作られた人工ベクターです。今回の遺伝子治療ではリポソームと呼ばれる非ウイルスベクターを用います。

#### ③悪性黒色腫に対する遺伝子治療の種類

1992 年、米国のローゼンバーグらは腫瘍部に浸潤するリンパ球を取り出して体外でサイトカインの一種である腫瘍壊死因子(TNF)の遺伝子を導入し、悪性黒色腫患者へ移入する最初の癌遺伝子治療を行いました。その後も悪性黒色腫に対しては、米国などにおいて種々のサイトカインや組織適合抗原(HLA-B7)などの遺伝子を導入する遺伝子治療や免疫遺伝子治療が試みられています。

## (2) 今回の遺伝子治療について

今回の遺伝子治療では、細胞に入れる遺伝子としてヒトβ型インターフェロン遺伝子を、運び屋であるベクターとしてリポソームを用います。

### ①ヒトβ型インターフェロン遺伝子

ヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させるためにプラスミド pDRSV-IFNβ を用います。プラスミド pDRSV-IFNβ とは輪になった DNA で、この中にはヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させる引き金となるプロモーターとヒトβ型インターフェロン遺伝子が組み込まれています。プラスミド pDRSV-IFNβ が悪性黒色腫の細胞の中に入りますと、細胞の中で遺伝子が働きだしてヒトβ型インターフェロンが作られます。今まで行われた実験では、ヒトβ型インターフェロンの遺伝子がメラノーマの細胞内で働き始めますと、遺伝子が働いた細胞は死滅することがわかっています。さらに遺伝子が働くことによって作られたヒトβ型インターフェロンは細胞の外に分泌され、まわりの腫瘍細胞の増殖を抑えたり、免疫力を高めたりすることが確認されています（付図1）。これまでの基礎的研究により、この遺伝子治療によって、単にヒトβ型インターフェロンのみの投与に比べて格段に優れた治療効果がえられる可能性が示されています。

### ②リポソーム

脂質の二重膜で作られた小さな容器（マイクロカプセル）をリポソームと呼びます。リポソームは昔から抗がん剤などの薬の運び屋として医療においても利用されてきましたが、遺伝子を運ぶ能力は低かったので遺伝子治療への応用はむずかしいと考えられていました。しかし私たちはリポソームの表面にプラスの電気を帯びさせることで遺伝子の運び屋としての能力を高めることに成功しました（付図2）。またリポソームは基本的には私たちの体を作っている細胞とほぼ同じ成分でできていることからウイルスベクターに比べ、安全性が高いと考えられています。今回の遺伝子治療では私たちが新しく開発したリポソームがベクター（遺伝子の運び屋）として使われます。

### ③今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由

悪性黒色腫の細胞が他部位にまで及んで増殖した段階では先に述べてきたように現在行われている治療だけでは完全に治すことができません。特に既に手術や化学療法などがおこなわれてきたにも関わらず、再発してきたケースではその傾向はいつそう強く見られます。また、合併症などのために外科療法や化学療法などを施行できないこともあります。以上のような場合、

他に有効な治療法は存在しないのが実情です。そこで今回、ヒトβ型インターフェロン遺伝子を使う治療を考えましたわけです。ヒトβ型インターフェロン遺伝子を取り込んだ悪性黒色腫細胞は、病巣内に高濃度のヒトβ型インターフェロンを産生しつつ死滅し、局所に産生されたヒトβ型インターフェロンが周囲の悪性黒色腫細胞にも作用します。また悪性黒色腫に対する免疫反応が高まり、局所的、全身的效果を期待できる可能性もあることが基礎的実験で明らかにされています。

#### 4. 具体的な手順について

##### (1)手順

まず今回の遺伝子治療のおおまかな流れ（概要）を示します。

- 1) あなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを決めるための身体検査を行います。
- 2) 皮膚、皮下、リンパ節の腫瘍病巣内とその周囲に遺伝子治療薬（ヒトβ型インターフェロン遺伝子を包埋したリポソーム）を注入します。この操作を週3回、合計6回施行します。1度に注入する病巣の個数は1個から数個とし、DNAの1回総量を150μgまでとします。

以上が概要です。以下にこの遺伝子治療を行うために必要な手順を詳しく説明します。

##### ①身体検査

これはあなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを決めるため、必要な検査です。

##### a) 血液検査

貧血・出血傾向の有無、肝臓・腎臓・心臓などの各臓器の働き、栄養状態を調べます。

##### b) 尿検査（早朝尿）

腎臓の働きや感染症の有無を調べます。

##### c) 病巣の大きさの計測

肉眼的に、あるいは超音波、X線検査、CT、MRIなどの検査で、全身の病巣を検出し、各病巣の大きさを計測します。

##### d) 皮膚テスト

今回の遺伝子治療で用いられる遺伝子治療薬にアレルギーがないかどうかを調べます。

##### e) 遺伝子発現の検索

治療前後の病変部におけるインターフェロンなどの遺伝子発現についても検索致します。これに関する同意書は別に定め、信州大学医学部ならびに共同研究施設の該当する委員会の

承認をえて、実施致します。この場合もあなたに十分な説明を行い、自発的な同意をえた上で検査を実施します。なお、原則として本研究において解析される生体試料を他の目的のために用いることはありません。ただし、あなたが同意して下されば、将来の研究のための貴重な資源として、あなたの生体試料を符号化し、人名を特定できないようにした上で研究終了後も保管させていただきます。なお将来、その試料を研究に用いる場合は、改めてその研究計画書を倫理委員会等に提出し、承認を受けた上で利用させていただきます。

## ②遺伝子治療の内容

皮膚、皮下、リンパ節の転移病巣内とその周囲に注射針を刺入し、pDRSV-IFN $\beta$ 包埋リポソーム製剤 IAB-1 を直接注入します。1 転移巣への 1 回当たりの注入 DNA 量は 30 $\mu$ g までとし、注入は週 3 回、合計 6 回の予定で行います。注入時の疼痛が強い場合には、注入前に局所麻酔剤を作用させ、その軽減を図ります。転移巣が多発している場合には、2 個以上の転移巣にそれぞれ 30 $\mu$ g DNA 量までの同製剤を注入する予定です。ただし、1 回当たりの DNA 注入総量は 150 $\mu$ g までとします。治療終了から 4 週後に安全性と有効性を検討します。その結果、有用と判定され、かつあなたが治療の継続を希望された場合には、上述と同様の遺伝子導入療法をさらに 2 回追加実施する予定です。なお、病巣内への薬剤の注入により転移が促進されるのではないかと、という懸念を持たれるかもしれませんが、インターフェロン $\beta$ には悪性黒色腫の転移を抑制する作用を有することが知られており<sup>32)</sup>、また病巣周囲にも薬剤を注入しますので、転移促進の危険性は低いものと考えます。

## ③現時点で想定できる不測の事態

- a) 直接針を刺すことにより腫瘍内から出血を来すことがあります。
- b) 感染症
- c) 注射された物質に対するアレルギー反応として、発熱、悪寒、発汗、めまい、息切れ、胃腸の痛み、はきけ、嘔吐、下痢など。
- d) アナフィラキシーショック；非常に稀ですが、人によってはアナフィラキシーショックと呼ばれる激しいアレルギー反応を経験することがあります。

## (2)遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について

あなたが遺伝子治療を選択した場合には、遺伝子治療を開始する日からさかのぼって 4 週間以内および遺伝子治療中、さらに遺伝子治療薬の最終回投与後に続く 4 週間は、あなたから特別な要望がなく、あなたの容態が急変しない限り、他の治療は何も行わないことになります。



### (3) 遺伝子治療実施後の中止の方法について

以下に示す事態が生じたときには遺伝子治療を中止します。

- ① 遺伝子治療に着手した後でも、あなたから「中止してほしい」という希望が出されれば、その意向を尊重し、以後の遺伝子治療を中止します。
- ② 遺伝子治療開始後に重篤な副作用が出現した場合、あなたにその旨をお伝えし、遺伝子治療を中止します。
- ③ 遺伝子治療中または経過観察中にあなたの体に悪性黒色腫以外の問題がみつきり、かつその問題が重大と判断された場合には遺伝子治療を中止します。
- ④ 遺伝子治療の代表責任者が遺伝子治療の継続が難しいと判断した場合は、遺伝子治療を中止します。

## 5. 効果判定と追跡調査について

治療効果については以下に示す項目をもって評価します。

- ① 腫瘍の縮小効果
- ② 遺伝子治療薬が最初に投与されてから腫瘍の増大が確認されるまでの期間
- ③ 遺伝子治療薬が最初に投与されたからの生存期間。
- ④ 機能的改善度

上に述べられた項目を基にこの研究の治療効果を評価するためにあなたには治療終了後3年間の追跡調査への参加が必要となります。

また、再発時には本人及び家族と現在の病状、本臨床研究の経緯及びその効果について十分に話し合いを行った後、可能な治療があればそれを実施します。

## 6. あなたの保護について

あなたの健康と安全を保護するために、遺伝子治療を担当する医師以外の委員で構成される審査委員会が遺伝子治療薬の投与を続けることがあなたにとって安全であるかどうかを評価します。あなたの診療に関する記録は、当院で保管し、秘密を厳守します。またこの遺伝子治療の結果を医学雑誌や学会で報告する場合にも、あなたのプライバシーは守られます。

## 7. 費用について

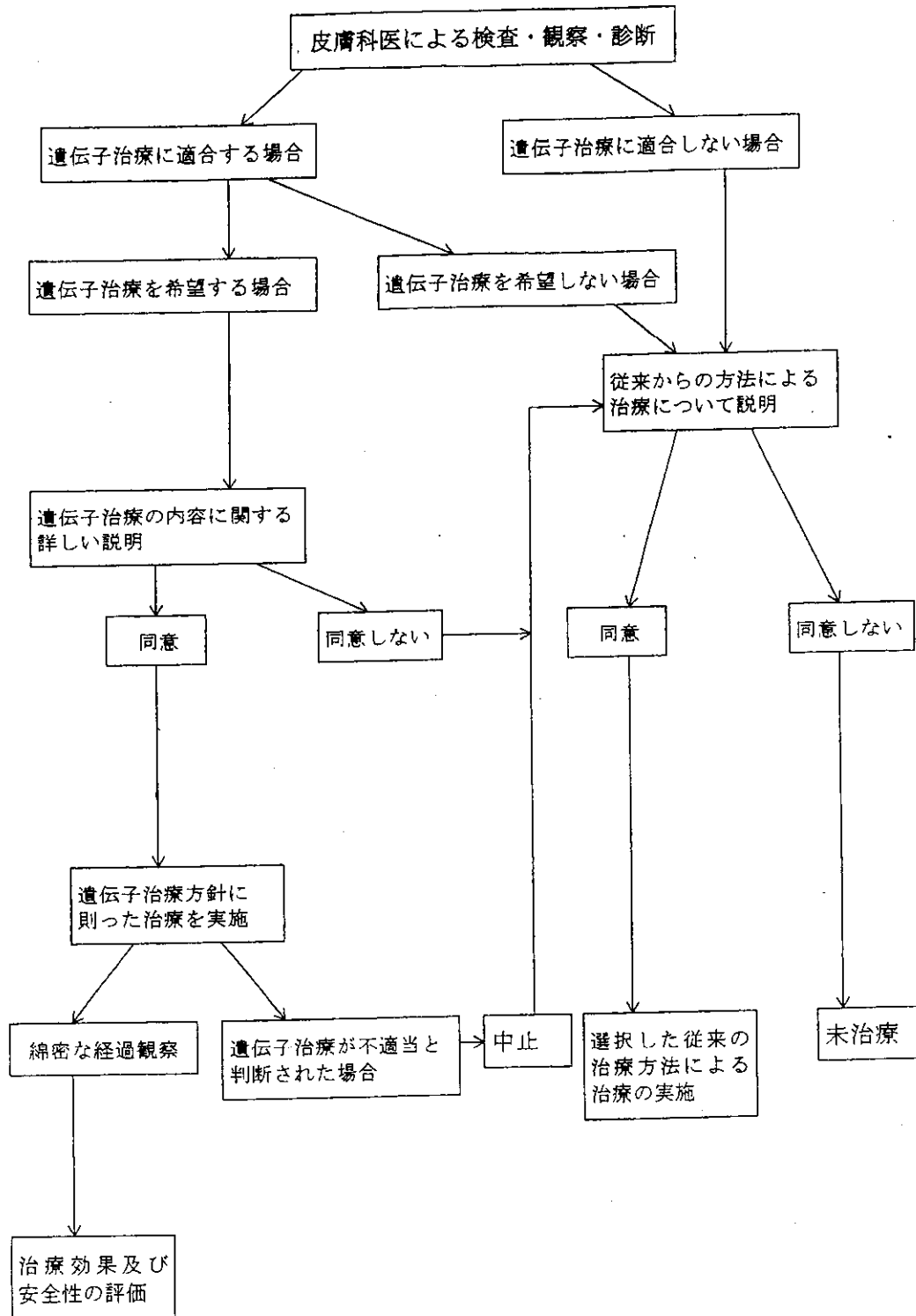
遺伝子治療及び一般治療に関わる諸経費（入院治療や検査などにかかる費用）のうち、保険診療の対象とならない検査などにかかる費用はすべて無料となります。ただし、保険診療でまかなわれる経費については、通常の保険適用によって処理されます。

#### 8. 賠償請求について

遺伝子治療を担当する医師あるいはスタッフの故意、過失によって、あるいはその他の原因によって損害が生じることはないと確信しております。しかし万が一そのようなことがあれば、可能な限り誠意をもって対応いたします。

以上説明させていただきました一連の臨床研究の流れを一覧表にしますと、付表1のようになります。

付表1. 治療計画の流れ



## 9. 問い合わせ先

総括責任者および共同研究者らは、この研究についてあなたに詳しくそして分かりやすく説明できるようにこの説明文を作成し、またあらゆる質問に答えられるよう準備をしております。もしあなたがこの研究中に研究に関連して、なにか質問したい場合には、通常の勤務時間内であれば主治医である松本和彦博士、宇原 久博士、久保 仁美博士、村田 浩博士に連絡して下さい。でき得る限りすみやかに対応できるよう準備致します。外泊時・帰宅時など、今回の研究現場（病院）から離れた場所で発生した医療上の緊急事態には、あなた、あるいは親族、親権者・監護権者を通じて上記の担当医師に必ず連絡するようにして下さい。

連絡先：信州大学医学部皮膚科

電話：0263-37-2647（皮膚科医局）、0263-37-2788（皮膚科病棟）

FAX：0263-37-2646（皮膚科医局）

## 10. 責任者一覧

この研究は悪性黒色腫の皮膚、皮下、リンパ節転移巣に対するヒトβ型インターフェロン遺伝子包埋リポソームの安全性及び生物学的効果を評価するために、生命維持が施行直前に困難な状態ではない患者さんを対象として計画され、以下に示す研究者の総意によって実施されるものです。なお、本臨床研究に関して、万一事故が生じた場合にはその最終的責任は総括責任者が負うものと致します。

実施施設長： 信州大学医学部附属病院長

医学博士 清澤研道

総括責任者： 信州大学医学部皮膚科学教授

医学博士 斎田俊明

共同研究者： 信州大学医学部皮膚科学講師

医学博士 松本和彦

信州大学医学部皮膚科学講師

医学博士 宇原 久

信州大学医学部皮膚科学助手

医学博士 久保仁美

信州大学医学部皮膚科学助手

博士（医学） 村田 浩

名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野教授

医学博士 吉田 純

名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野助教授

医学博士 水野正明

熊本大学医学部皮膚科学助教授

医学博士 影下登志郎

11. 書類その他

この説明書と同意書の原本は信州大学医学部附属病院で保管します。今後の参考と個人的な記録としてこの書類の写しをあなたにお渡ししますので大切に保管して下さい。

私は患者 殿（代諾者 殿）に対して、この遺伝子治療臨床研究の目的、必要性、危険性、合併症などについて説明いたしました。

平成 年 月 日

信州大学医学部附属病院

官職

説明者医師

(印)

同意に関する文書

(1)成人用

今までの文章を十分に理解されたら次に進んで下さい。これから先は、あなた自身が作られたと仮定して代筆された文章です。内容がご自身の意思と相違ないことを確認しながら読み進めて下さい。

信州大学医学部附属病院長 殿

同 意 書

私、遺伝子治療希望者は、この書式の写しを受け取り、十分に時間をかけて読み、熟慮を重ねました。私は、この研究について主治医と話し合い、私が抱くあらゆる疑問について主治医及び研究者に尋ねる機会を十分に持つことができました。したがってこの臨床研究への参加は、まったく私の自由意志によるものです。また、私は臨床研究を続ける上でいかなる不利益を被ることもなく、いつでもこの臨床研究への参加を拒否することができるものと理解します。私は、この同意書に署名することにより、総括責任者の指示の下に、ヒトβ型インターフェロン遺伝子包埋リボソームによる臨床研究を受けることに同意するものであります。なお今回の臨床研究を受けるうえで、私の親族の代表者並びに入院中、日常の看護をうける看護師にも立会人として臨床研究の説明の場に同席して頂きました。これは、私の受けた臨床研究の説明内容を私と共に聞いて頂き、私が十分に理解したと思われるかどうかを親族、看護師の立場で判断して頂くためです。私と一緒に十分な理解と判断ができたと思われた場合は、下記の所定欄に私と一緒に署名をして頂きます。

平成 年 月 日

患者

住所：

氏名： 署名 (印)

患者親族

住所：

氏名： (続柄： )

署名 (印)

治療総括責任者

住所：

氏名： 署名 (印)

説明医師（担当医）

住所：

氏名： 署名 (印)

立会人（看護師）

住所：

氏名： 署名 (印)



(1)未成年用

今までの文章を十分に理解されたら次に進んで下さい。これから先は、あなた自身が作られたと仮定して代筆された文章です。内容がご自身の意思と相違ないことを確認しながら読み進めて下さい。

信州大学医学部附属病院長 殿

### 同 意 書

私、遺伝子治療希望者は、この書式の写しを受け取り、十分に時間をかけて読み、熟慮を重ねました。私は、この研究について主治医と話し合い、私が抱くあらゆる疑問について主治医及び研究者に尋ねる機会を十分に持つことができました。したがってこの臨床研究への参加は、まったく私の自由意志によるものです。また、私は臨床研究を続ける上でいかなる不利益を被ることもなく、いつでもこの臨床研究への参加を拒否することができるものと理解します。私はこの同意書に署名することにより、総括責任者の指示の下に、ヒトβ型インターフェロン遺伝子包埋リポソームによる臨床研究を受けることに同意するものであります。私が未成年者であることから、私の理解や判断を介助するものとして親権者・監護権者( )氏)にも同席してもらいました。これは私が受けた臨床研究の説明内容を私が十分に理解できたと判断された場合に、下記の所定欄に私と一緒に署名していただくためです。

なお私の親族の代表者並びに今回の臨床研究を受けるうえで、入院中、日常の看護をうける看護師にも立会人として臨床研究の説明の場に同席して頂きました。これは、私の受けた臨床研究の説明内容を私と共に聞いて頂き、私が十分に理解したと思われるかどうかを親族・看護師の立場で判断して頂くためです。十分な理解と判断ができたと思われた場合は、下記の所定欄に私と一緒に署名をして頂きます。

平成 年 月 日

患者

住所：

氏名：

署名

(印)

患者親族

住所：

氏名：

(続柄： )

署名

(印)

患者親権者・監護権者

住所：

氏名：

署名

(印)

治療総括責任者

住所：

氏名：

署名

(印)

説明医師 (担当医)

住所：

氏名：

署名

(印)

立会人 (看護師)

住所：

氏名：

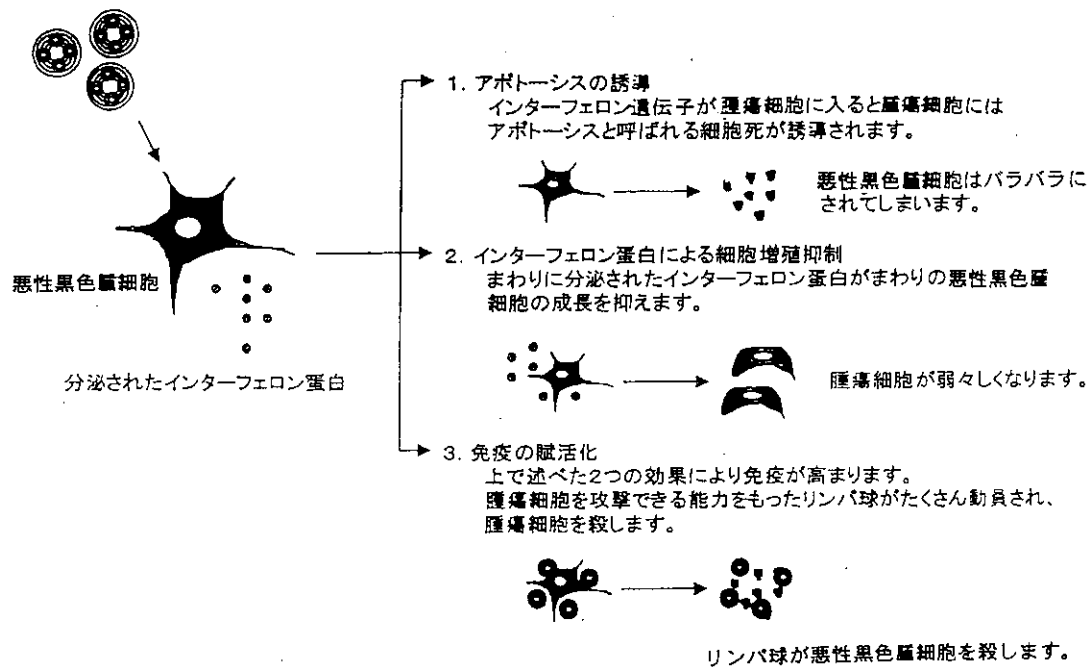
署名

(印)

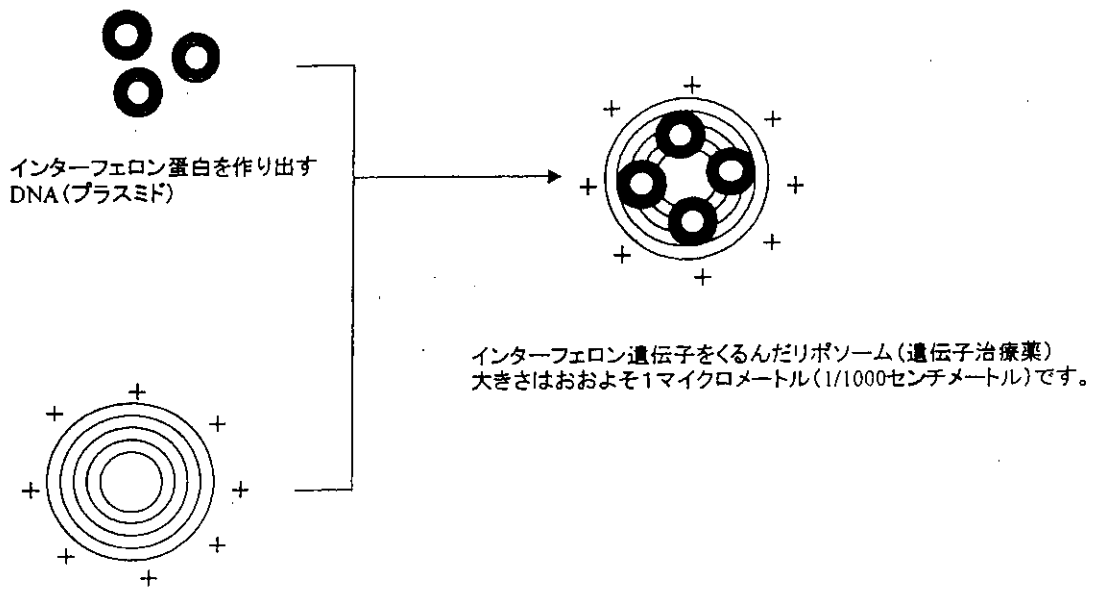
# 付図1. リポソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による悪性黒色腫への抗腫瘍効果

リポソームにくるまれたヒトβ型インターフェロン遺伝子は以下の図に示すメカニズムで悪性黒色腫細胞を殺します。

インターフェロン遺伝子をくるんだリポソーム



付図 2. 遺伝子導入に用いられるリポソーム製剤の模式図



表面がプラスに荷電(電気を帯びていること)している  
リポソームと呼ばれるベクター(運び屋)

## 11. 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況

総括責任者の齋田及び共同研究者（松本、宇原、久保、関、木庭）は信州大学医学部附属病院皮膚科を中心にこれまでに 200 例以上の悪性黒色腫患者の治療に携わってきており、十分な臨床経験を有するとともに、悪性黒色腫の新しい治療法の開発のための臨床的研究（固層化 CD3 活性化 T 細胞を用いる養子免疫療法、抗原ペプチド刺激樹状細胞療法、新たな併用化学療法 DTIC-ACNU-CDDP-Tamoxifen 療法の開発、sentinel node biopsy の有用性に関する研究）、ならびに基礎的研究（SEREX 法による新規悪性黒色腫抗原の同定、腫瘍巣内血管の脆弱性に関する研究、抗イディオタイプ抗体によるワクチン療法の研究など）を行い、多方面にわたって成果を上げている。齋田は厚生労働省がん研究助成金による悪性黒色腫研究班の班員・班長や日本皮膚悪性腫瘍学会理事長を務めている。このように、信州大学医学部附属病院皮膚科は日本における悪性黒色腫の診断・治療の中心的施設として高く評価されている。また、共同研究者の吉田と水野は本遺伝子治療につき基礎的研究から臨床研究に至るまでこれまでに多くの研究成果を上げ、旧文部省、旧厚生省の許可をえたうえで、2000 年 4 月より名古屋大学医学部附属病院にて本製剤を用いる悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究を開始している。今回の悪性黒色腫の遺伝子治療に関しては、信州大学皮膚科と名古屋大学脳神経外科は 1996 年から共同研究を開始し、*in vitro*、*in vivo* において本遺伝子製剤が悪性黒色腫に対しグリオーマに勝るとも劣らない効果を発揮しうることを見出している。なお、信州大学医学部附属病院には既に遺伝子診療部が設置されており、その協力も得られることになっている。以上のように、本臨床研究チームはこの臨床研究遂行の能力を十分に備えており、研究開始の準備体制を整えている。

なお、本遺伝子治療臨床研究に用いる遺伝子製剤 IAB-1 は名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療製剤調製室において水野、松本らが作製、調製したものを、凍結剤または凍結乾燥製剤として信州大学医学部附属病院へ輸送、保存し、患者に投与する。この製剤は、吉田らが既に国の許可を得て開始したグリオーマの遺伝子治療臨床研究で用いているものと同一の製剤である。

## 12. 悪性黒色腫の遺伝子治療に関する国内外の研究状況

### (1)悪性黒色腫に対する各種遺伝子治療の現状

悪性黒色腫は通常化学療法、放射線療法にきわめて抵抗性であるため、新たな治療法が模索されてきた。その中で近年、期待を集めているのが免疫療法と遺伝子治療である。悪性黒色腫は細胞障害性 T リンパ球(CTL)に認識される抗原ペプチドの解析がもっとも進んでいる腫瘍であるので、樹状細胞をこれらのペプチドで刺激して患者に戻す治療法などが開発されつつある<sup>10)</sup>。しかし、なお実験段階のものであり、確立された治療法とはいえない。悪性黒色腫は遺伝子治療の臨床試験が最初に試みられた悪性腫瘍として知られている。すなわち、1992 年米国の Rosenberg らは、進行期悪性黒色腫の腫瘍巣内に浸潤する TIL を取り出し、*ex vivo* で腫瘍壊死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) の遺伝子をレトロウィルスベクターを用いて導入した後、メラノーマ患者へ静脈内投与した<sup>33)</sup>。移入 TIL が腫瘍巣部へ浸潤することとこの治療法の安全性は確認されたが、TNF- $\alpha$  の発現レベルが低く、十分な臨床効果は得られなかった。ミシガン大学の Nabel らは 1993

年、悪性黒色腫患者の皮膚転移巣にリポソームを遺伝子導入ベクターとして HLA-B7 遺伝子を導入し、CTL を誘導しようと試みた<sup>34)</sup>。5人中2人で腫瘍の増大抑制がみられたが、治療効果のその後の経過は不明である。これは正電荷リポソームを用いた最初の遺伝子治療臨床研究であり、投与 DNA 量は 10~250 $\mu$ g であったが、有害事象は観察されなかった。また、Hui らは 19 例の各種の末期癌患者の皮膚転移巣へ HLA-A2、HLA-B13、murine H-2K 遺伝子を DC-chol/DOPE リポソームを用いて注入している<sup>35)</sup>。この内、HLA-A2 を週 1 回 4 週間にわたって注入した 8 症例において 2 病巣の完全寛解を、4 病巣の部分寛解をみている。この治療による有害作用は特に認められず、安全に施行できたと報告されている。

その後、悪性黒色腫の遺伝子治療に関しては多数の *in vitro*、*in vivo* の研究が実施され、多くの基礎的知見が蓄積されている。これらの研究成果に基づいて臨床研究も試みられているが、その多くは悪性黒色腫細胞に免疫賦活作用を有するサイトカイン類の遺伝子を導入し、悪性黒色腫細胞に対する CTL の誘導やその活性化を狙う免疫遺伝子治療の範疇に属するものである。2001 年 5 月現在、表 5 に示すように、28 種のプロトコールについて計 81 の臨床試験が実施されている。導入遺伝子はインターロイキン 2 (IL-2)、インターロイキン 4、インターロイキン 7、インターロイキン 12 (IL-12)、GM-CSF、インターフェロン $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) などのサイトカイン類の遺伝子が多いが、costimulatory molecule の CD80(B7.1)遺伝子、あるいは悪性黒色腫の腫瘍抗原遺伝子などの導入も試みられている。まだ少数例での第 I 相がほとんどであり、なお進行中のプロトコールも多く、治療法として確立されているものは存在しないが、興味深い知見が積み重ねられている。2003 年 2 月現在までに報告されている知見を巻末の付録資料 4) にまとめた。たとえば、Rosenberg らは悪性黒色腫抗原の MART-1 と gp100 の遺伝子を組み込んだアデノウィルスを開製し、54 例の進行期悪性黒色腫患者へ投与する第 I 相臨床試験を施行した<sup>36)</sup>。その結果、安全性が確認され、1 例の完全寛解を含む有効例を認めたが、IL-2 単独投与群に比べ有意に優れた成績は得られなかった。この臨床試験ではウィルスに対する中和抗体の出現が効果を減弱した可能性が示された。

英国の Palmer らは自己の悪性黒色腫に IL-2 を発現させ、放射線照射後に皮下注射し、12 例中 4 例で CTL 活性の増強を、1 例で腫瘍抗原に対する皮膚反応(DTH)の誘導を検出した。3 例では stable disease の状態が 7~15 カ月続いたという<sup>37)</sup>。John Wayne Cancer Institute のグループは悪性黒色腫転移巣へ IFN- $\gamma$  遺伝子をレトロウィルスベクターで導入する臨床研究を 17 例に行った<sup>38)</sup>。5 日間連日注入を 1 コースとし、1 コースのみの 9 例と 2 週毎に 6 コース実施した 8 例の 2 群について効果を検討した。局注病巣の反応は 6 コース群では partial or complete response が 3 例、stable disease が 5 例みられたが、1 コース群では反応は 1 例にみられたのみであった。臨床的に反応した患者では悪性黒色腫抗原(MAGE-A1, tyrosinase, gp100, TRP-2)に対する IgG 抗体の上昇が認められ、これらの抗体産生と全身的効果との間に相関が認められた。Kang らによれば、レトロウィルスベクターを用いて *ex vivo* で IL-12 遺伝子を導入した患者の線維芽細胞を悪性黒色腫などの進行期癌患者 9 例の転移巣周囲へ 7 日間隔で 4 回注入したところ、4 例で注入部の転移巣の縮小がみられ、悪性黒色腫の 1 例では非注入部の転移巣の縮小も認められたという<sup>39)</sup>。悪性腫瘍の遺伝子治療における遺伝子製剤の投与

ルートに関しては、2001年9月現在の J Gene Med のデータベースによれば、腫瘍巣内へ直接注入する方法がもっとも多く行われており（全プロトコールの 24.7%）、対象患者 3464 人中の 1217 人（35.1%）を占めている。以上のように、悪性黒色腫などの免疫遺伝子治療では、遺伝子を導入された病巣部での効果のみでなく、非導入の他部位の病巣に対する効果も期待されていることが分かる。

## (2)リポソームを用いた遺伝子治療の開発

リポソームは脂質二重膜よりなる閉鎖小胞であり古くから drug delivery system として注目を集め、一部では臨床応用されている。リポソームについては、①生体膜に類似した構造を有しており、細胞などと相互作用しやすく、②その組成の多くは生体膜に由来するため毒性が低く、抗原性が少ない、③遺伝子を含めた種々の物質を物理化学的に包埋できる、④リポソームの表面に抗原、抗体、糖などの特異的リガンドを結合できる、などの利点があげられる。従来のリポソームは遺伝子の delivery system としては効率が悪く、その利用価値は少なかったが、Felgner ら<sup>40)</sup>が合成カチオン性脂質、N-L-(2,3 ジオレオキシ)-プロピル-N,N,N-トリメチルアンモニウムクロライド (DOTMA) を用いたリポソームによる遺伝子導入（リポフェクション）で高い遺伝子導入効率が得られることを明らかにしたことを契機に、遺伝子導入用リポソームの開発が盛んに行われるようになった。

リポソームを用いた遺伝子治療開発に関する基礎的研究は癌・線維性嚢胞症・脳炎をはじめ多くの疾患を対象に行われてきた。噴霧による肺や気管支あるいは鼻腔上皮への遺伝子導入、カテーテルを用いた血管内皮細胞への遺伝子導入、腫瘍内への直接投与、全身投与による治療効果などがその例である。臨床研究については、米国あるいは英国で DC-chol/DOPE リポソームを用いた転移性皮下腫瘍に対する遺伝子治療と同リポソームや DMRIE/DOPE リポソームを用いた線維性嚢胞症に対する遺伝子治療が進められている。その一例が、前述の Nabel らによって施行された悪性黒色腫に対する正電荷リポソームを用いた遺伝子治療臨床研究である<sup>34)</sup>。また既述のように、シンガポール大学の Hui らは皮膚転移巣内へ HLA サブタイプと murine H-2K の遺伝子をリポソーム法で遺伝子導入し、卵巣癌や子宮頸癌で顕著な増殖抑制が観察されたと報告している<sup>33)</sup>。線維性嚢胞症に対する遺伝子治療臨床研究は英国の National Heart and Lung Institute で開始され、患者 15 症例に DC-chol/DOPE リポソームを用いて cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) 遺伝子が気管上皮に噴霧された。気管上皮への毒性、炎症反応、遺伝子導入効率が検討された結果、ヒトにおいて安全に施行できること<sup>41)</sup>、また動物実験では繰り返し投与も可能なことなどが報告されている<sup>42)</sup>。

本臨床研究の共同研究者である名古屋大学の吉田と八木らは、これまで用いられてきた unilamellar vesicles とは異なる multilamellar vesicle (MLV) の正電荷リポソームを遺伝子治療のベクターとして開発した。この multilamellar vesicle (MLV) は DNA が表面に結合する unilamellar vesicles とは異なり、DNA の多くは胞内に包埋されるという特徴を有する。彼らは名古屋大学医学部附属病院において、このリポソームに pDRSV-IFN $\beta$  を包埋した遺伝子製剤 IAB-1 を clinical grade の製剤として生産、調製

する体制を整えたうえで、旧文部省、旧厚生省の許可をえて 2000 年 4 月より悪性グリ  
オーマに対する遺伝子治療臨床研究を開始した。第 1 例目では画像診断学的ならびに病  
理組織学的に一定の効果が認められ、重篤な有害反応はみられなかった。さらに現在、  
この製剤の凍結剤と凍結乾燥製剤が作製され、安定的な供給が可能となった。第 2、第  
3 例目の治療にはこれらの製剤が使用され、効果と安全性が確認されている。

### 13. 研究者の略歴・研究業績

#### (1) 研究者の略歴

##### ① 斎田俊明 信州大学医学部皮膚科学講座教授

1971 年 3 月 東京大学医学部卒業

1972 年 4 月 東京大学医学部皮膚科学講座・助手

1975 年 11 月 埼玉県立がんセンター皮膚科・医員

1980 年 10 月 東京大学医学部分院皮膚科・講師

1983 年 4 月 東京大学医学部分院皮膚科・助教授

1984 年 9 月 Harvard Medical School(Massachusetts General Hospital)に留学

1985 年 4 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助教授

1989 年 9 月 信州大学医学部皮膚科学講座・教授、現在に至る

##### ② 松本和彦 信州大学医学部皮膚科学講座講師、名古屋大学大学院医学系研究科細胞 情報医学専攻脳神経病態制御学脳神経外科学分野非常勤講師

1982 年 3 月 信州大学医学部卒業

1982 年 5 月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1983 年 4 月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1986 年 4 月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長

1987 年 4 月 信州大学医学部皮膚科学教室・助手

1987 年 10 月 東京大学医科学研究所免疫研究部・客員研究生

1988 年 12 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手

1992 年 7 月 New York Medical College 微生物免疫学教室に留学

1994 年 10 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手

1994 年 12 月 信州大学医学部附属病院皮膚科・講師、現在に至る

2002 年 8 月 名古屋大学大学院医学系研究科細胞情報医学専攻脳神経病態制御学  
脳神経外科学分野非常勤講師、現在に至る

##### ③ 宇原 久 信州大学医学部皮膚科学講座講師

1986 年 3 月 北海道大学医学部卒業

1986 年 6 月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1987 年 10 月 信州大学医学部附属病院・助手

1988 年 9 月 名戸ヶ谷病院皮膚科、国立がんセンター研究所病理部・研究員

1990 年 2 月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長

1991 年 2 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手



1997年11月 信州大学医学部皮膚科学講座・講師、現在に至る

④久保仁美 信州大学医学部皮膚科学講座助手

1988年3月 信州大学医学部卒業  
1988年6月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医  
1990年5月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手  
1990年7月 長野赤十字病院皮膚科・医員  
1991年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手  
1992年4月 東京大学医科学研究所・客員研究生  
1994年9月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手、現在に至る

⑤村田 浩 信州大学医学部皮膚科学講座助手

1991年3月 信州大学医学部卒業  
1991年6月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医  
1992年6月 長野赤十字病院皮膚科・医員  
1993年6月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員  
1993年10月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手  
1994年4月 University of Miami School of Medicine 皮膚科に留学  
1996年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手  
1996年8月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員  
1999年7月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長  
2000年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員  
2001年4月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手、現在に至る

⑥吉田 純 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授

1969年3月 名古屋大学医学部卒業  
1969年4月 名古屋第一赤十字病院勤務  
1972年7月 京都府立医科大学病理学講座研究生  
1976年7月 New York University Medical Center に留学  
1978年2月 岐阜県立多治見病院脳神経外科・医長  
1980年4月 愛知県厚生連加茂病院脳神経外科・第二部長  
1982年1月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・助手  
1991年9月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・講師  
1996年2月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・教授  
2000年4月 名古屋大学大学院医学研究科脳神経外科学分野・教授、現在に至る

⑦水野正明 名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野・助教授

1986年3月 富山医科薬科大学医学部卒業  
1986年4月 名古屋大学大学院医学研究科博士課程入学  
1990年3月 名古屋大学大学院医学研究科博士課程退学