

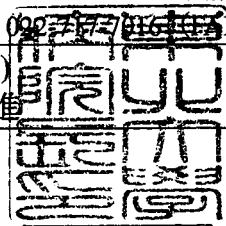
別紙様式第 4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 18 年 1 月 27 日

厚生労働大臣殿

実 施 設	所 在 地	仙台市青葉区星陵町 1-1 (郵便番号 980-8574)
	名 称	東北大学病院 022-717-7145 (電話番号) 022-717-7146 (FAX 番号)
	代 表 者 役職名・氏名	東北大学病院長 (職印) 里見 進



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の終了報告書を提出します。


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
非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授 貫和 敏博




遺伝子治療臨床研究終了報告書

平成12年9月21日

研究の名称	非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	平成12年9月29日から平成17年6月24日まで

総括責任者	所属部局の所在地	仙台市青葉区星陵町 1-1 (郵便番号 980-8574)	
	所属機関・部局・職	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授 (東北大学加齢医学研究所 呼吸器腫瘍研究分野 教授)	
	氏名	貫和 敏博	
実施の場所	所在地	仙台市青葉区星陵町 1-1 (郵便番号 980-8574)	
	名称	東北大学病院	
	連絡先	仙台市青葉区星陵町 1-1 (電話番号 022-717-8539) 東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	西條 康夫	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 教授	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察、効果判定
	田澤 立之	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター調整、薬剤投与、臨床観察
	菊地 利明	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、ベクター調整、薬剤投与、臨床観察
	海老名 雅仁	東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 講師	患者の選定、患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察、効果判定
	近藤 丘	東北大学病院 呼吸器外科 教授	患者への説明及び同意の取得、薬剤投与、臨床観察
石岡千加史	東北大学病院 腫瘍内科 教授	P53 遺伝子異常の検索、分子生物学的実験	

石橋 忠司	東北大学医学部保健学科 放射線技術科学 専攻 放射線医療技術学講座総合画像診断 技術学分野 教授	臨床観察、効果判定、画像診 断
田中 紀章	岡山大学医学部第一外科学講座 教授	岡山大学附属病院における 臨床研究に関する情報提供、 共同研究施設間の症例の調 整
藤原 俊義	岡山大学医学部・歯学部附属病院・ 遺伝子・細胞治療センター・助教授	岡山大学附属病院における 臨床研究に関する情報提供、 共同研究施設間の症例の調 整
Jack A. Roth	テキサス大学 M.D アンダーソン 癌センター・胸部心臓血管外科・教授	Ad5CMV-p53 ウイルスベク ターの作製、遺伝子治療臨床 研究全体の指導
Shawn Gallagher	Introgen Therapeutics 社・製品開発担当 副社長	Ad5CMV-p53 ウイルスベク ターの提供

審査委員会の開催状況	平成 13 年 10 月 30 日、本研究計画の一部変更である、臨床試験(治験)から、 臨床研究への変更について審議し、承認した。また、第 1 例目の経過につい ての報告を得た。				
	平成 17 年 6 月 24 日、本研究の概要、経過、および成果について審査委員会 各委員に報告し、全委員の承諾を得て、本研究の終了が了承された。				
	<table border="1"> <thead> <tr> <th>審査委員会の長の職名</th> <th>氏 名</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>東北大学大学院医学系研 究科発生・発達医学講座 遺伝病学分野教授</td> <td>松原 洋一 </td> </tr> </tbody> </table>	審査委員会の長の職名	氏 名	東北大学大学院医学系研 究科発生・発達医学講座 遺伝病学分野教授	松原 洋一 
審査委員会の長の職名	氏 名				
東北大学大学院医学系研 究科発生・発達医学講座 遺伝病学分野教授	松原 洋一 				

研究区分	○遺伝子治療臨床研究 遺伝子治療標識研究
研究の目的	<p>本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその80%以上を占めており、2/3が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの感染、mRNA レベル及び蛋白質レベルでの p53 遺伝子の発現、アポトーシスの誘導、などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコールに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われる。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 は Introgen Therapeutics 社から供給される。</p>
対象疾患	非小細胞肺癌
実施方法	<p>正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第1群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入した。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第1群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第2群として Ad5CMV-p53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。80 mg/m² の CDDP を第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53 ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注された。10⁹ PFU のレベルで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与量を10倍増量し、10¹⁰ PFU のレベルでは第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の 10¹¹ PFU では、第1群のみで3人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は1ヶ月に1度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価した。気</p>

	<p>管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRI などで抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取扱い規約（改訂第 4 版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、O₂ 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0-4 度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範疇も入らない場合。本研究の登録症例数は 15 例、本学においては 2 例の被験者に治療が行われた。</p>
<p>研究結果の概要 及び考察</p>	<p>別紙 1 のとおり</p>
<p>研究成果の公表状況</p>	<p>別紙 2 のとおり</p>

研究結果の概要および考察

課題名：

非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究

総括責任者：

貫和敏博（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科長 教授）

主な分担研究者：

西條 康夫（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 教授）

田澤 立之（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手）

菊地 利明（東北大学病院 遺伝子・呼吸器内科 助手）

田中 紀章（岡山大学医学部第一外科学講座 教授）

藤原 俊義（岡山大学医学部・歯学部附属病院 遺伝子・細胞治療センター 助教授）

【要旨】

「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究」について臨床応用を推進した。対象となる被験者は切除不能な p53 遺伝子に異常を持つ非小細胞肺癌患者であり、気管支内に突出する腫瘍を有する場合は気管支鏡下に、また末梢型の腫瘍を認める場合はコンピューティッド・トモグラフィー(CT)ガイド下穿刺により腫瘍部位に微細穿刺針を用いて正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 液を注入した。本研究は岡山大学で平成 11 年 3 月より第 1 例目の被験者の治療を開始し、翌平成 12 年 4 月より東北大学を含む 4 施設の研究の形で進められてきた。平成 15 年 4 月に目標症例数である 15 例目の被験者の登録を終え、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認されたため第 I 相臨床試験を終了した。15 例中 6 例ではシスプラチン (CDDP) の全身投与が併用された。最も多くみられた副作用は一過性の発熱のみであり、その他に明らかな因果関係が証明された重篤な有害事象は認められなかった。臨床効果としては、咳や血痰の消失、呼吸機能の改善、腫瘍マーカーの低下などがみられた。また、症例によっては腫瘍縮小がみられ、局所的には癌細胞のアポトーシス誘導が組織学的に確認された。Ad5CMV-p53 投与後に血中抗アデノウイルス中和抗体価は全例で上昇したが、治療後の生検サンプルを用いた RT-PCR 解析では、p53 mRNA 発現は経過中維持される症例がほとんどであった。Ad5CMV-p53 の生体内分布の解析も行ったが、遷延するベクターの排泄などは認められなかった。ただ、腫瘍内投与にもかかわらず Ad5CMV-p53 は血漿中に検出され、全身循環に入ることが確認された。本研究により、Ad5CMV-p53 の腫瘍内投与は安全に施行可能であることが明らかとなった。

【研究目的】

本邦における肺癌患者の発生率は増加を続けている。扁平上皮癌、腺癌、大細胞癌を一括した非小細胞肺癌はその 80%以上を占めており、2/3 が発見時に切除不能であり予後は不良である。肺癌の発生・進展に遺伝子レベルの変化が関与していることは明らかであり、非小細胞肺癌では約 50%に癌抑制遺伝子 p53 の異常が認められている。本研究の目的は、p53 遺伝子に突然変異や欠失などの異常を有する根治的切除不能な原発性あるいは再発性非小細胞肺癌症例において、正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与とシスプラチン(CDDP)の全身投与を行った場合の安全性を観察し最大耐量を決定することであり、併せて治療効果も検討することである。まず正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを単独で局所投与した場合の質的・量的安全性を確認し、次いで CDDP の全身投与を併用した場合の質的・量的安全性を観察する。さらにそれぞれにおいて治療効果の判定を行うとともに、腫瘍退縮や転移抑制、生存期間の延長などを期待する際の根拠となる分子生物学的効果、たとえばベクターの分布や p53 遺伝子の発現などについて解析する。本研究は、テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの遺伝子治療臨床研究プロトコルに準じて、同センターの J. A. Roth 博士との共同研究で行われた。試験薬である正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMV-p53 は Introgen Therapeutics 社から供給された。

【実施方法】

正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)は、各種安全性試験を経て本研究に用いられた。第1群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入した。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始め、第1群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第2群として Ad5CMV-p53 ウイルスベクター局所投与と CDDP の全身投与を同時に行った。 80 mg/m^2 の CDDP を第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53 ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注された。 10^9 PFU のレベルで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与量を10倍増量し、 10^{10} PFU のレベルでは第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の 10^{11} PFU では、第1群のみで3人の被験者に投与された。CDDP 投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は1ヶ月に1度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B 期あるいは IV 期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。被験者の病歴・現症や赤血球・白血球数、血小板数、出血・凝固時間、電解質、生化学検査一般などの検査は、治療前及び治療中各クールの開始前後に行われた。治療開始前後の血液を採取し、アデノウイルスに対する抗体の産生をチェックした。治療前及び治療中の臨床効果を画像診断及び内視鏡診断により評価した。気管支鏡的に腫瘍が直視可能であれば一定の距離から写真撮影を行い、その位置と大きさを記録した。また胸部 X 線写真、CT・MRI などで抽出可能であれば同様の所見を記録した。臨床病期は肺癌取扱い規約（改訂第4版）に基づいて決定した。動脈血ガス分析、 O_2 飽和度、FEV1.0 を含む呼吸機能検査も施行した。気管支鏡的あるいは CT ガイド下に到達可能な腫瘍からは、Ad5CMV-p53 ウイルスベクター投与後に微細針吸引あるいは生検により癌組織を採取し、DNA 及び mRNA を抽出した。癌組織の DNA サンプルより特異的なプライマーを用いて PCR を行い Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの感染を確認した。また、Reverse Transcription-PCR により正常型 p53 遺伝子の発現を RNA レベルで確認した。治療中及び治療後に見られるすべての毒性・副作用は、各治療前後に 0～4 度で評価された。治療効果は以下の評価指標に基づいて判定された。Complete Response (CR)：完全に腫瘍が消失、Partial Response (PR)：腫瘍体積で 50%かそれ以上の縮小、あるいは直交する長径と短径が測定不能な症例では、最大腫瘍径の平均で 30%かそれ以上の縮小、Progressive Disease (PD)：腫瘍体積で 25%あるいはそれ以上の増加、No Change (NC)：CR、PR、PD、いずれの範疇にも入らない場合。本研究の登録症例数は 15 例、本学においては 2 例の被験者に治療が行われた。

（倫理面への配慮）

被験者へのインフォームドコンセントのために作成した文書は新 GCP に乗っ取って作成されており、治療遺伝子やベクターに関しても図を多用してできるだけ平易な言葉で説明している。また、米国で進行中の臨床試験の安全性や治療効果の情報も網羅されている。本研究の「実施計画書」および「説明と同意書」は、東北大学の遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認されており、また厚生省先端医療技術評価部会および文部省遺伝子治療臨床研究専門委員会で倫理的妥当性について了承されている。

【研究結果】

平成 11 年 3 月に岡山大学医学部・歯学部附属病院で開始した本研究は、平成 12 年 4 月に多施設共同臨床試験に移行しており、以後、岡山大学医学部・歯学部附属病院、東京医科大学、東北大学病院、慈恵会医科大学の 4 施設の共同研究として進められた。平成 15 年 4 月に 15 例目の被験者の登録が行われ、平成 17 年 5 月にすべての被験者の死亡が確認され第 I 相臨床試験を終了した。9 例の p53 遺伝子導入単独投与あるいは 6 例のシスプラチン併用の治療が行われた（岡山大学 9 例、東京医大 3 例、東北大学 2 例、慈恵会医大 1 例）（表 1）。

1) **安全性**：現在までのところ、高い確率をもって発症する重篤な副作用は認められておらず（表 2）、ベクター投与の当日あるいは翌日に一過性の 38°C 台の発熱はみられているが、いずれも自然と軽快している。ベクター投与後に閉塞性肺炎を発生した症例も認められたが、ベクターそのものとの明らかな因果関係はないと考えられた。CT ガイド下投与の際の気胸やシスプラチン由来と思われる嘔気、食欲不振はみられているが、いずれも米国の臨床試験の結果から予測される範囲内であり、本治療は安全に施行可能であると考えられる。

2) 生体内分布: 喀痰から抽出した DNA をテンプレートとしてベクター特異的なプライマーを用いて行った PCR 解析では、多くの症例で投与翌日にベクター断片が検出され、ほとんどの症例で2週間以内に陰性となっていた。一方、尿中にはほとんどベクターは検出されておらず、2 症例で一時的に認められたのみであった。また、腫瘍内局所投与にもかかわらず、投与後 30 分をピークに血漿中にベクターが検出された。これはバイオアッセイでの結果であるため、感染性のベクターが検出されていると考えられる。しかし、ベクターの全身循環に由来すると思われる反復する重篤な有害事象は認められていない。10⁹ および 10¹⁰ PFU の Ad5CMV-p53 が投与された 12 症例の投与前後の生検サンプルの解析では、48 時間後に採取した組織の DNA-PCR により 42 回の投与のうち 37 回でベクターが確認されており、ほとんどのケースで確実にベクターが標的部位に deliver されていることが証明された。症例 3 と症例 7 では、それぞれ最終投与後 25 日目、151 日目に剖検が可能であった。いずれも腫瘍組織からは DNA-PCR にてベクター断片が検出され、近位リンパ節でも確認された。また、同サンプルの RT-PCR により 42 回中 34 回で p53 mRNA 発現が認められ、高率に p53 遺伝子発現が誘導されていることが明らかになった。さらに、血中抗アデノウイルス中和抗体価は、ほぼ全例で初回投与後に上昇していた。すなわち、抗体価の上昇にもかかわらず p53 遺伝子発現は持続的に保たれており、局所投与の場合には全身循環する血中中和抗体は導入遺伝子発現に顕著な影響をおよぼさないと推測された。また、血中抗 p53 抗体価は 3 例で比較的継続的に上昇がみられたが、2 例は治療前から上昇しており、その他の症例では有意な変化は認められなかった。

3) 臨床効果: Ad5CMV-p53 を投与した 15 例中評価可能であった 13 例の臨床効果は、PR (partial response) 1 例、SD (stable disease) 10 例、PD (progressive disease) 2 例であり、1 例の PR 症例と 3 例の SD 症例、計 4 例では、呼吸機能の改善、血痰の消失、肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された。SD とは、実施方法で述べている NC (no change) と同義である。第 1 例目の症例では、気管分岐部の扁平上皮癌の退縮 (PR) が見られ、1 年間、計 14 回の投与を行うことが可能であった。治療期間中、病理学的には complete remission (CR) には至らなかったが、腫瘍量は明らかに減少し、そこからの腫瘍増殖は月 1 回のベクター投与で抑制されていた。左肺上葉の腺癌を持つ第 4 例目の症例でも、前医で大量の抗癌剤を使用したにもかかわらず増大していた腫瘍が、遺伝子治療とシスプラチンの併用を開始するとその増殖が止まり、治療を中止した約 8 ヶ月後までほぼサイズが変化しなかった。さらに興味深い点は、この症例では両肺野に多数みられた微小肺内転移も治療期間中増大しなかったことである。右肺上葉の腺癌を持つ第 10 例目では、シスプラチンを併用する遺伝子治療を 2 回施行した後、放射線療法を行った。その後、2 年を越えて腫瘍サイズはほとんど変化せず、平成 16 年 9 月に永眠されたが、治療開始から 3 年 9 ヶ月の生存が得られた。また、東北大学で実施された第 14 例目においても 4 回の遺伝子治療後に、同部位に対して照射を実施したところ、他臓器への転移で死亡するまでの 2 年 4 ヶ月間、原発巣の増大は認められなかった。本症例の経過から、p53 遺伝子導入により放射線感受性が誘導された可能性が示唆された。

【考察】

非小細胞肺癌に対する p53 遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかとなった。生体内分布に関しても詳細な解析が行われ、抗アデノウイルス抗体価の上昇にもかかわらず、導入された p53 遺伝子発現が長期に得られることがわかった。また、症例によっては腫瘍縮小効果や増殖抑制が認められ、簡便な局所療法としての有用性が確認された。臨床効果で興味深い点は、p53 遺伝子治療後に放射線療法を行った症例で比較的長期の生存が得られたことである。p53 遺伝子導入により放射線感受性が増強した可能性があり、今後のメカニズムの解析や臨床応用への反映が望まれる。欧米では、Ad5CMV-p53 は ADVEXIN[®] として開発が進んでおり、2003 年 9 月、米国食品医薬品庁 (FDA) から頭頸部扁平上皮癌に対するオーファンドラッグとして迅速審査対象医薬品に認定された。近い将来、ADVEXIN[®] は遺伝子治療製剤として市場に出るとされる。それに続き、非小細胞肺癌に対しても世界的に臨床開発が進行する予定である。一方、中国では、1998 年より臨床試験が開始され、Gendicine[®] として 2003 年 10 月に頭頸部癌に対する医薬品として承認され、臨床で使用されている。

本臨床研究への参加希望が 4 施設で計 450 人以上に達しており、残念ながら適応患者はかなりしぼられたものの、社会的ニーズは極めて高いと思われる。今後、第 II 相臨床試験に進み、その有効性を明らかにすることは、一般医療として本治療法が確立されることにつながり、社会的にも重要であると考えられる。現在は極めて進行した患者が対象であるが、ベクターの安全性が確認されれば積極的に他の治療法との併用を検討することができる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与することで腫瘍サイズの縮小を期待したり、また術中の腫瘍細胞散布による転移を抑制することもできる。根治切除不能な症例の切除断端に投与することで、局所再発や遺残腫瘍組織の再増殖を予防することができる。すなわち、

より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになると期待される。

【結論】

p53 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は安全に施行可能であり、遺伝子導入およびその発現が確認された。遺伝子治療による奏効率は8%（13例中1例）であり、強い抗腫瘍効果を認めず、本プロトコールによる p53 遺伝子治療については結果を確認して終了することとする。放射線療法との併用効果が推定された結果を受けて今後は、放射線療法と p53 遺伝子治療の併用療法についての研究を行う。

表 1 p53 遺伝子治療を施行された症例一覧

症 例	年/性	病 理	部 位	病 期	前 治 療	投与経路	投 与 量	回数
(岡山大学) 01	58/男	扁平上皮癌	気管分岐部	cT4N0M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	14
(岡山大学) 02	58/男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU	9
(岡山大学) 03	66/男	扁平上皮癌	右主気管支	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 レーザー療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	4
(岡山大学) 04	46/女	腺癌	左肺上葉	cT2N3M1 St IV	化学療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	10
(岡山大学) 05	55/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU + CDDP	3
(岡山大学) 06	54/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT3N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	2
(東北大学) 07	71/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N1M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	2
(岡山大学) 08	52/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT2N2M0 St IIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	1
(岡山大学) 09	66/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N0M0 St IB (術前)	手術 化学療法 放射線療法	CT	10 ¹⁰ PFU	4
(慈恵医大) 10	51/男	腺癌	右肺下葉	cT2N2M1 St IV	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	1
(東京医大) 11	51/男	腺癌	右肺上葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(東京医大) 12	61/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2
(岡山大学) 13	62/男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N3M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1
(東北大学) 14	70/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N2M0 St IIIA	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4
(東京医大) 15	62/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 St IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	4

表 2 p53 遺伝子治療における有害事象

有害事象	重症度			計(%)N=15
	軽度	中等度	重度	
発熱	1	11	2	14(93.3%)
血痰	8	1	0	9(60%)
悪心	2	3	0	5(33.3%)
嘔吐	3	2	0	5(33.3%)
咳	4	0	0	4(26.7%)
下痢	4	0	0	4(26.7%)
閉塞性肺炎	0	3	1	4(26.7%)
便秘	3	0	0	3(20%)
背部痛	2	1	0	3(20%)
胸痛	3	0	0	3(20%)
貧血	0	1	2	3(20%)
口内炎	2	0	0	2(13.3%)
左肩疼痛	2	0	0	2(13.3%)
感染症	1	1	0	2(13.3%)
全身倦怠感	2	0	0	2(13.3%)
腰痛	2	0	0	2(13.3%)
神経系 - 聴覚	0	2	0	2(13.3%)
呼吸困難	0	0	1	1(6.7%)
肺炎	0	1	0	1(6.7%)
無気肺	0	0	1	1(6.7%)
腹部膨満感	1	0	0	1(6.7%)
感覚神経異常	1	0	0	1(6.7%)
気胸	1	0	0	1(6.7%)
血腫(前胸部)	1	0	0	1(6.7%)
鼻汁	1	0	0	1(6.7%)
胸水	1	0	0	1(6.7%)
下血	1	0	0	1(6.7%)
歯痛	1	0	0	1(6.7%)
急性上気道炎	0	1	0	1(6.7%)
神経系 - 気分	1	0	0	1(6.7%)
生検部疼痛	1	0	0	1(6.7%)
白血球減少	1	0	0	1(6.7%)
食欲不振	0	1	0	1(6.7%)
体重減少	0	0	1	1(6.7%)
左手第2指化膿	1	0	0	1(6.7%)
上腕疼痛(右)	0	1	0	1(6.7%)

研究成果の公表状況

【学会発表】

1. 藤原俊義、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 による遺伝子治療臨床研究：安全性、効果、遺伝子発現、生体内分布に関する中間報告。第 61 回日本癌学会総会（ワークショップ）、2002。
2. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、西條康夫、貫和敏博、中村治彦、加藤治文：p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌の遺伝子治療：多施設共同による第 I 相臨床試験。第 41 回日本癌治療学会総会（シンポジウム）、2003。
3. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Akiba, T., Sato, T., Eto, Y. Multicenter phase I trial of adenovirus expressing the wild-type p53 gene (Ad-p53) administered intratumorally for the treatment of advanced lung cancer patients: safety, efficacy, transgene expression, and shedding in biological fluids. 第 9 回日本遺伝子治療学会、2003。
4. 藤原俊義、田中紀章、香川俊輔、西崎正彦、吉村邦彦、佐藤哲夫、衛藤義勝、中村治彦、加藤治文、西條康夫、貫和敏博：多施設共同による p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター（ADVEXIN）を用いた肺癌遺伝子治療の第 I 相臨床試験。第 62 回日本癌学会総会、2003。

【誌上発表】

1. Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, Yoshimura K, Sato T, Eto Y, Chada S, 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.* 2006, in press.

別紙様式第4

遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成 18 年 7 月 4 日

厚 生 労 働 大 臣 殿

実 施 設	所 在 地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)
	名 称	東京医科大学病院 03-3342-6111 (電話番号) 03-3342-6154 (FAX番号)
	代 表 者 役職名・氏名	東京医科大学病院長 阿 部 公 彦 (職印)

下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の終了報告書を提出します。


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
非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究	東京医科大学病院 外科学第一講座 教授 加藤 治文


遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

(受付番号)	平成 11 年 9 月 17 日
--------	------------------

研 究 の 名 称	非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成 13 年 1 月 17 日から平成 15 年 7 月 9 日まで

総括責任者	所属部局の所在地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)	
	所属機関・部局・職	東京医科大学病院 外科学第一講座 教授	
	氏 名	加藤 治文 	
実施の場所	所 在 地	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (郵便番号 160-0023)	
	名 称	東京医科大学病院	
	連 絡 先	東京都新宿区西新宿 6-7-1 (電話番号 03-3342-6111) 東京医科大学第一外科	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	中村 治彦	東京医科大学病院・第一外科・講師	患者の選定、説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	平野 隆	東京医科大学病院・第一外科・講師	説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	大平 達夫	東京医科大学病院・第一外科・助手	説明及び同意の取得、ベクターの投与、臨床観察、効果判定
	海老原 善郎	東京医科大学・病理学第二講座・教授	治療効果の病理学的検討
	水口 純一郎 水野 文雄	東京医科大学・免疫学・教授 東京医科大学・微生物学・教授	治療効果の免疫学的検討 治療効果のウイルス学的検討

向井 清 植田 信太郎 西條 長宏 横田 淳 Shawn Gallagher	東京医科大学・病理学第一講座・教授 東京大学大学院・理学系研究科生物科学専攻・助教授 国立がんセンター中央病院・内科部長 国立がんセンター研究所・生物部・部長 Introgen Therapeutics 社・製品開発担当副社長	治療効果の病理学的検討 分子生物学的実験に関する情報提供 化学療法に関する情報提供 癌関連遺伝子に関する情報提供 Ad5CMV-p53 ウイルスベクターの提供
--	---	---

審査委員会の開催状況	平成 18 年 6 月 1 日の審査委員会において、本研究の目的、経過及び成果について審査委員会各委員に報告し、全委員から承諾を得て、本研究の終了が了承された。 別紙 2 参照	審査委員会の長の職名	氏 名
	東京医科大学病院 遺伝子治療臨床研究 審査委員会委員長	大屋敷 一馬	

研究区分	○遺伝子治療臨床研究 遺伝子治療標識研究
研究の目的	<p>遺伝子治療は分子標的治療のひとつと位置づけられ、元来、生体内に存在していた細胞制御機構を調整して治療効果を得る点で、従来の薬物治療とは一線を画した治療法である。日本では 1995 年に北海道大学で、先天性代謝疾患であるアデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症の 4 歳男児に対して、ADA 遺伝子を導入した自己末梢血単核球を投与したのが初めての臨床例である。現在、米国を中心として施行されている遺伝子治療の対象疾患として最も多いのは悪性腫瘍に対するもので、肺癌に対する臨床試験としては米国テキサス大学 MD アンダーソン癌センターの Jack Roth らのグループによって報告されたものが最初である。これは代表的な癌抑制遺伝子である p53 に変異を有する非小細胞肺癌に対して、正常型 p53 遺伝子を導入することにより腫瘍の悪性形質を抑制し、抗腫瘍効果を得ることを目的としている。</p>
対象疾患	非小細胞肺癌
実施方法	<p>1999 年、日本では Roth らの使用したアデノウイルスベクター (Ad5CMV-p53) とその治療プロトコルを導入した phase I 臨床試験がアール ピー アール ジェンセル社と共同で岡山大学第一外科によって開始された。その後、このプロジェクトに東北大学加齢医学研究所、東京慈恵会医科大学、東京医科大学第一外科が加わり、多施設共同研究としての治験が開始された (2001 年から臨床研究)。</p> <p>1. 東京医科大学病院における p53 肺がん遺伝子治療のプロトコル</p> <p>本治療には遺伝子組み換え技術によってウイルス増殖に必須な E1A 遺伝子を除去し、正常な p53 遺伝子が組み込まれたアデノウイルスベクター (Ad5CMV-p53) が使用される。このベクターは米国のベンチャー企業の Introgen Therapeutics 社が開発し、米国における治験開始に際しての安全性については FDA の認可が得られている。治療の対象は原則として手術適応がないか、すでに手術後で化学療法、放射線療法が施行され、従来の治療法ではそれ以上の効果が期待できない IIIA 期以上の進行した非小細胞肺癌である。また、腫瘍組織の SSCP 解析で p53 遺伝子に変異を認め、また腫瘍組織の PCR 法解析で E1A 遺伝子が検出されない事が前提となる。臨床試験という性格上、安全を期すためにこの他にもいくつかの除外項目がある。</p> <p>p53 は最も活発に研究されてきた癌抑制遺伝子のひとつであり、その機能は多岐にわたるが、総じて腫瘍の増殖を抑制する分子機構に深く関与している。</p> <p>本プロトコルでの肺癌細胞への Ad5CMV-p53 ベクター導入は腫瘍局所への注入で行われる。末梢肺癌に対しては CT ガイド下で経皮的に注入し、中枢気管支の肺癌に対しては内視鏡下に注入される。プロトコルにはベクター単独投与群とベクターと CDDP 併用投与群の 2 アームがある。遠隔転移が存在する症例は必然的に CDDP 併用投与群に振り分けられた。第 1 群は Ad5CMV-p53 ウイルスベクター単独投与による安全性を検討するために行われた。被験者が気管支内腔から観察可能な中枢性の腫瘍を有している場合、気管支鏡を挿入し 21G の経気管支的吸引針を用いて腫瘍内数ヵ所に Ad5CMV-p53 ウイルスベクター調製液を注入した。局所的に進行した末梢型腫瘍に対しては、21G 穿刺針を用いて CT ガイド下穿刺にて腫瘍内にベクター液を局所注入した。ウイルスベクター量は 10^9 PFU から始</p>

	<p>め、第1群でのウイルスベクター単独投与が安全であれば、第2群としてAd5CMV-p53ウイルスベクター局所投与とCDDPの全身投与を同時に行った。80 mg/m²のCDDPを第1日目に点滴にて静脈内投与し、Ad5CMV-p53ウイルスベクターは第4日目に腫瘍内に局注された。10⁹ PFUのレベルで第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた後、Ad5CMV-p53ウイルスベクター投与量を10倍増量し、10¹⁰ PFUのレベルでは第1群、第2群それぞれ3人ずつの被験者に試みられた。次いで最大用量の10¹¹ PFUでは、第1群のみで3人の被験者に投与された。CDDP投与量は原則として一定に保たれた。治療後の観察期間中に重篤な副作用が見られず、かつ病変の進行がみられなければ、この治療は1ヶ月に1度繰り返された。被験者は非小細胞肺癌を有し、原則として臨床病期 IIIA・B期あるいはIV期で外科的に治癒切除不能の症例とされた。月1回の間隔で投与し、重篤な副作用、肺癌の進行、患者の中止希望などがなければ最大12回の投与を行う。多施設共同で行った臨床研究全体で、15症例登録し、東京医科大学では、3症例に対して遺伝子治療を行った。</p>
<p>研究結果の概要 及び考察</p>	<p>症例1 68歳 男性 腺癌 症例2 61歳 男性 扁平上皮癌 症例3 62歳 男性 扁平上皮癌</p> <p>症例1(68歳)に対してAd5CMV-p53ウイルスベクター10¹⁰ PFU 2回(CDDP併用)、(2001.1.17, 2001.2.14)、症例2(61歳)には治療回数は10¹⁰ PFU 3回(CDDP併用)、(2001.5.23, 2001.6.20, 2001.7.18)、症例3(62歳)に対しては10¹¹ PFU 4回(CDDP併用なし)を行った(2003.4.16, 2003.5.14, 2003.6.11, 2003.7.9)。いずれの症例も治療効果としては、SD(Stable Disease)と診断された。遺伝子治療では他の抗癌剤等の治療法に抵抗性の症例を対象に行っており、SDを得られるということは非常に評価される。特に、東京医科大学での一症例が(症例1)、当臨床研究での最終生存例として長期生存が得られており(遺伝子治療開始より3年8ヶ月)、その有効性を期待する結果となった。しかし最終症例も死亡し、臨床試験登録症例全例が死亡し、臨床研究は終了した。</p> <p>死亡原因は全例、癌による死亡であり、遺伝子治療に関連する重篤な合併症などは認められなかった。</p> <p>詳細は別紙1参照。</p>
<p>研究成果の 公表状況</p>	<p>1. Endobronchial/Endothoracic Treatment: Up-to-Date p53 アデノウイルスベクターによる肺癌遺伝子治療 中村治彦, 佐治久, アウテ・イデリス, 緒方昭彦, 川崎徳仁, 西條天基, 本田英俊, 原田匡彦, 加藤治文 気管支学 25巻8号 709-713頁(2003.12)</p> <p>2. 非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチンを用いた遺伝子治療臨床研究 第I相試験 中村治彦, 加藤治文, 西條康夫, 貫和敏博, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 藤原俊義, 田中紀章 肺癌 43巻5号 407頁(2003.10)</p> <p>3. p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(ADVEXIN)を用いた肺癌の遺伝子治療</p>

- 多施設共同による第I相臨床試験
藤原俊義, 田中紀章, 香川俊輔, 西崎正彦, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 西條康夫, 貫和敏博, 中村治彦, 加藤治文
日本癌治療学会誌 38 巻 2 号 226 頁(2003.09)
4.
多施設共同による p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(ADVEXIN)を用いた肺癌遺伝子治療の第I相臨床試験
藤原俊義, 田中紀章, 香川俊輔, 西崎正彦, 吉村邦彦, 佐藤哲夫, 衛藤義勝, 中村治彦, 加藤治文, 西條康夫, 貫和敏博
日本癌学会 62 回総会記事 163 頁(2003.08)
5.
p53 アデノウイルスベクターによる肺癌遺伝子治療
中村治彦, 佐治久, 緒方昭彦, 萩原優, 川崎徳仁, 西條天基, 加藤治文
気管支学 25 巻 3 号 163 頁(2003.04)
6.
肺癌遺伝子治療の現況
中村治彦, 佐治久, 加藤治文
呼吸器科 2 巻 3 号 215-220 頁(2002.09)
7.
癌免疫療法・化学療法の新知見 非小細胞肺癌に対する遺伝子治療
中村治彦, 佐治久, 萩原優, 川崎徳仁, 保坂誠, 緒方昭彦, 大平達夫, 加藤治文
日本気管食道科学会会報 53 巻 2 号 155 頁(2002.04)
8.
遺伝子診断及び治療のもたらすもの 肺癌遺伝子治療の経験
佐治久, 中村治彦, 大平達夫, 川崎徳仁, 萩原優, 緒方昭彦, 保坂誠, 小守千守, 加藤治文
東京医科大学雑誌 59 巻 6 号 496-497 頁(2001.11)
9.
分子標的と肺癌治療 非小細胞肺癌に対する p53 アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療
中村治彦, 佐治久, 川崎徳仁, 保坂誠, 緒方昭彦, 萩原優, 大平達夫, 小中千守, 加藤治文
肺癌 41 巻 5 号 414 頁(2001.09)
10.
肺癌の遺伝子診断・治療
中村治彦, 加藤治文
外科治療 82 巻 3 号 364-365 頁(2000.03)
11.
Multicenter phase I trial of adenovirus expressing the wild-type *p53* gene (Ad-*p53*) administered intratumorally for the treatment of advanced lung

	<p>cancer patients: safety, efficacy, transgene expression, and shedding in biological fluids. Fujiwara, T., Tanaka, N., Kataoka, M., Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., Saijo, Y., Nukiwa, T., Yoshimura, K., Akiba, T., Sato, T., Eto, Y. 第9回日本遺伝子治療学会 (2003)</p> <p>12. Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 in patients with advanced non-small-cell lung cancer. Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, Yoshimura K, Sato T, Eto Y, Chada S, Nakamura H, Kato H. J Clin Oncol. 24(11): 1689-99 (2006.04)</p>
--	--