

⑥遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準および中止判定基準

本検討のプライマリーエンドポイントは、予後不良局所限局性前立腺癌に対する HSV-tk 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、ならびに根治的前立腺全摘除術を施行した場合の安全性の確認であり、その評価については、Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 日本語版を基準とした、副作用の発現頻度、程度、合併症を検討する。

またセカンダリーエンドポイントとして、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の解析と、同治療効果の病理学的な評価を目的としており、その治療効果の評価基準として、病理学的病期および Gleason score を一致させた遺伝子治療未施行のハイリスク前立腺癌をコントロール群として、各種評価項目における定量的評価の比較・検定を行うものとする。また対照比較研究となる症例に関しても、書面で同意を得る（添付資料 15）（評価パラメーター：9 (5)④C「治療後評価」参照）。

治療中止の判定基準につき、以下に記載する。

- 1) 治療開始後、血小板減少、および肝機能障害等の重篤な副作用が認められた場合。
- 2) 抗癌剤や HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター以外の実験的薬物を投与した場合。
- 3) 本研究に登録された後で、治療開始前に被験者の都合で必要な検査、調査の実施が不可能であることが判明した場合。
- 4) 被験者が本研究の円滑な遂行に非協力的である場合。
- 5) 被験者が治療の中止を申し出た場合。
- 6) その他、担当医が中止の必要性を認めた場合。

⑦被験者の安全性確保および健康被害補償

- 1) 本実施計画書は、北里大学病院に設置された遺伝子治療審査小委員会で審議され承認を得た後、厚生労働省厚生科学審議会科学技術部会ががん遺伝子治療臨床研究作業委員会にて科学面、倫理面について審議される。

- 2) 安全・効果評価・適応判定専門小委員会は、「抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法に関するガイドライン」により第三者的な委員会として設置することが推奨されている効果・安全性評価委員会に相当する。本委員会は、北里大学医学部・病院C委員会の下におくこととし、遺伝子治療審査小委員会と並列な位置付けとした。

本委員会は、担当医師及び総括責任者より提出された被験者の病歴や諸検査結果などの情報をもとに本研究における被験者の適格性を科学的・倫理的に評価する。また、治療中あるいは治療後に集積されたデータの妥当性を検討し、個々の被験者における治療効果について評価し、病院へ意見を提出する。さらに、予期しない重篤な副作用が発現した場合、または本治療法の最大耐量の判定が可能となった場合に、本治療を中止あるいは終了するか否かを協議する。

- 3) 予期せぬ重大な副作用の発現等、不測の事態が生じた場合、担当医師は直ちに治療（投与）を中止するなど適切な処置を講ずる。その場合、症状（検査値）が投与開始直前の状態にほぼ回復するまで、経過観察するものとし、ほぼ現状に回復したと認められる場合でも、最低28日間（4週間）は経過観察しなければならない。総括責任者は安全・効果評価・適応判定専門小委員会に諮るものとし、同委員会は試験継続の可否を決定する。

- 4) 重大事態や実施に影響を及ぼすおそれのある情報を確認した際（被験者の死亡、重篤な副作用の発現等の重大な事態：平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号に準ずる）には、当該研究との因果関係の有無にかかわらず、厚生労働大臣、および文部科学大臣に速やかに報告するものとする。

5) 健康被害補償

急性期および症状が固定または治癒するまでの治療費、検査費、入院費は本研究グループが負担する。ただし、治療後最長1年までとする。

また医療費以外の実費や、副作用等による症状が固定した後の治療費を含む費用については補償しない。また上記は、他の医療機関で治療された場合にも適応する。

⑧ 症例記録に関する記録用紙等の様式（資料8「前立腺癌に対する Herpes Simplex

Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究 症例記録用紙」参照)

被験者の容態、治療内容、検査内容と結果、および家族への説明などは一般の入院患者と同様に診療記録（カルテ）に記載し保存する。診療記録とは別に、遺伝子治療臨床研究に関連する全ての事項は症例記録に関する記録用紙の様式に従って、定期的に記入する。

10. 患者のプライバシー保護と秘密の安全

患者のプライバシー保護と秘密の保全に関しては、「北里大学病院の患者等の個人情報保護に関する取り扱い要領」ならびに「北里大学病院の患者等の個人情報保護に関する規定」を遵守することとする。以下、要点となる事項を転記する。

(1) 実施施設での安全管理措置

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「北里大学病院における患者の個人情報保護に関する基本規程」に基づいた措置を講ずる。

(2) 本研究における個人情報の保護

A. 個人情報の定義

この臨床研究における「個人情報」とは、「個人情報の保護に関する法律」（平成 15 年法律第 57 号）（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扱いのためのガイドライン」（平成 16 年 12 月 24 日厚生労働省）（以下「ガイドライン」という。）および「遺伝子治療臨床研究に関する指針」（平成 14 年 3 月 27 日文部科学省・厚生労働省告示第 1 号）（以下「指針」という。）に基づく情報を示すものとし、当該治療情報に含まれる氏名、生年月日、カルテ番号等その他の記述により、特定の個人を識別することができるものとする。

また、この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。

B. 利用目的の特定・利用目的の通知

この臨床研究における利用目的については、「指針」に基づいて作成された本実施計画書、ならびに「前立腺がん遺伝子臨床研究のための説明書」に記載された「研究の目的」に基づくものとする。また、個人情報保護法第15条第2項の規定において認められない範囲の利用目的の変更については、改めて本人に通知し書面にて同意を得る。

C. データ内容の正確性の確保

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

D. 第三者提供の制限

この臨床研究は、米国ベイラー医科大学ならびに岡山大学との共同研究であり、前述の共同機関とデータを共有する可能性について、予め「前立腺がん遺伝子臨床研究のための説明書・同意書」に記載、説明し、同項についても合わせて書面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ものとするが、止むを得ず研究・解析目的での提供が必要な場合には、改めて書面で通知を行い、同意を得る。

(3) 記録の保存

本研究に関連した記録は、北里大学病院において、研究の中止もしくは終了の後10年間保存することとする。

11. 同意の取得ならびに成績の公表の方法

- 1) 被験者からの正式な同意は、すべての試験手順を開始する前に、対象となる被験者本人に「遺伝子治療臨床研究のための説明書」に基づいて十分に説明する。被験者が内容をよく理解したことを確認した上で、本研究への参加について被験者本人の自由意志による同意を文書にて得るものとする。記名捺印または署名された2通の同意書の1通を被験者に手渡し、他の1通を診療記

録とともに保存する。

- 2) 被験者の同意が得られた後、担当医師は被験者の登録を行う。この時、各被験者ごとに症例報告書（症例記録）を作成する。症例記録には、病期（前立腺癌取扱規約に基づく臨床病期）、PS（performance status）、体重減少、登録前に施行された治療及びその結果などを記載する。
- 3) 各薬剤（HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター液あるいはガンシクロビル）投与前に、本研究に携わっている医師及び看護婦は治療の遂行が可能かどうかを十分に検討し、その結果を症例記録に記載する。
- 4) 担当医師は、被験者と接するときに毎回、具体的質問や検査（適宜）によって有害事象に関する情報を調査する。有害事象に関する情報は、直ちにすべて症例記録の有害事象記録欄に記載する。重篤な有害事象については、それ以外に「重篤な有害事象などに関する報告書」（資料9）にも必要事項を記入する。明らかに関連性がある徴候、症状及び異常な診断検査結果は、まとめて単一の事象として症例記録に記入する。研究期間中に発生した有害事象はすべて症例記録に記載する。各事象の臨床経過は、消失または安定化するまで、あるいは各薬剤（HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター液あるいはガンシクロビル）投与や試験への参加が原因でないことが確認されるまで追跡する。試験終了時にも持続している重篤な有害事象は、転帰が明らかになるまで追跡する。試験終了後に発生した重篤な有害事象は薬剤投与もしくは試験への参加によるものである疑いがあると考えられる場合は、そのすべてを直ちに症例記録に記載する。
- 5) 治療期間中及び治療終了後の臨床検査データは、北里大学病院管理課にて保存し、必要に応じて統計解析を行う。
- 6) 治療期間中及び治療終了後、本研究に携わっている医師は評価基準に基づいて治療効果と副作用を判定する。その結果は、安全・効果評価・適応判定専門小委員会において評価され、遺伝子治療臨床研究審査委員会にも意見が提出される。ここでその評価が了承されれば、必要に応じて統計学的解析を行う。
- 7) 本研究に関するすべての記録は、総括責任者の責任のもと北里大学病院管理課に保存される。
- 8) 本研究の結果を医学雑誌や学会で報告する場合でも被験者のプライバシーは守られる（「10. 患

者のプライバシー保護と秘密の安全」参照)。

- 9) 実施施設の長である北里大学病院長は、遺伝子治療審査小委員会が判断した基準のもと、本研究に関する適切かつ個人情報保護法に準じて、遵守するものとする。
- 10) 遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき、同じく北里大学病院長は、遺伝子臨床研究に関する情報の適切かつ正確な公開に努めるものとする。

12. 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の施設設備の状況、およびベクターの移送

北里大学医学部泌尿器科学教室の研究室では、日常的に各種癌細胞や正常細胞の組織培養が行われており、プラスチック器具（ディスポーザブル）や各種培養液は常備され、クリーンベンチやCO₂培養器の設備も整っている。切除標本や生検材料の免疫組織学的染色も教室員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白質分析の実験も行われている。また2002年度より遺伝子高次機能解析センターが開設され、遺伝子治療における *in vivo* を含めた解析がより優れた環境で行える施設を有する。さらに臨床組織検体を管理する tissue bank についても、すでに病院内に設置されている。

本研究に用いる非増殖性 HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターに関しては、岡山大学遺伝子・細胞治療センターにおいて、受入れ試験としての変性の有無を確認する外観試験、ウイルス粒子数の測定、さらに HSV-tk 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殺細胞効果試験も実施可能であり、現在も行なっている。一方、本遺伝子治療臨床研究の場合、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ウイルスベクターの品質管理であり、この点は製造元のペイラー医科大学により十分な管理が行われている。北里大学病院泌尿器科では、前立腺癌患者あるいは前立腺癌が疑われた患者に対する通常の処置として、超音波ガイド下生検を日常的に施行しており、臨床的技術の点では本治療の実施には問題はないと考えられる。ウイルスベクター液の注入を受けた被験者は、24時間のモニターが可能な新棟6階の個室にて管理される。もし重篤な副作用が認められた場合は、集中治療室（ICU）での管理下

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る。

また当該臨床研究に用いる非増殖性 HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの移送に関しては、ベクターの作製機関である米国ベイラー医科大学遺伝子・細胞治療センターから、北里大学医学部泌尿器科が受け入れ、その一部が受入れ試験のため岡山大学医学部歯学部付属病院・遺伝子細胞治療センターに移送される。

13. 当該遺伝子治療研究に関連する国内外の研究状況、および当該研究における今後の研究への反映

(1) 当該遺伝子治療臨床研究に関する培養細胞、実験動物、および臨床研究成果

前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の研究は、主に研究協力者である Timothy C. Thompson (ベイラー医科大学・泌尿器科・教授) の研究室において行われている (参考文献 6、7)。培養細胞、実験動物であるマウスを用いた前臨床研究においてその有効性、安全性が確認され、第 I 相臨床研究が 1996 年 8 月に開始、1998 年 4 月に終了し、その安全性が確認された。その後、同アデノウイルスベクターの反復投与による第 II 相臨床研究が、第 I 相臨床研究の 18 例を含む計 36 例に行われ、結果が 2001 年 11 月に報告された。それによると、患者血清 PSA 倍化時間の平均は治療前の 15.9 ヶ月から 42.5 ヶ月に延長し、治療を受けた内の 28 例 (77.8%) において、血清 PSA が平均 28% 低下するといった具体的な臨床有効性が確認されている。また同治療後に、末梢血における細胞障害性 T リンパ球の有意な活性化や、治療後の前立腺生検における癌細胞のアポトーシスと細胞障害性 T リンパ球の癌組織内浸潤の程度が有意に相関するといった、免疫学的なメカニズムの解析も報告、確認されている。1998 年 9 月からは、同遺伝子治療と根治的前立腺癌全摘除術との併用療法のところみが、同じく米国ベイラー医科大学泌尿器科において施行され、その病理学的評価において細胞障害性 T リンパ球の癌組織内浸潤が確認され、末梢血における細胞障害性 T リンパ球の優位な活性化も確認

されている（参考文献 13）。さらに、1999 年 7 月からは、同アデノウイルスベクターの反復追加投与に放射線治療を組み合わせた併用療法が始まっており、その安全性については、計 30 名中 RTOG (Radiation Therapy Oncology Group) スコアで、それぞれ 1 名の患者に Grade 3 にあたる ALT の上昇と頻尿の症状を認めたものの、薬物療法にて改善し、他の症例においては Grade 3 以上の重篤な副作用を認めなかった（参考文献 14）。

A. 培養細胞を用いた研究成果（参考文献 6 より抜粋）

① *In vitro* における遺伝子導入

アデノウイルスベクターの導入実験には RM-1 細胞を用いた。RM-1 細胞は研究協力者である Thompson らによって樹立されたマウス前立腺癌細胞である。レポーター遺伝子である β -ガラクトシダーゼ遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクター (ADV- β -gal) を使用し、RM-1 細胞への導入効率を調べた。50 万個の RM-1 細胞に、種々の感染濃度 (MOI) の ADV- β -gal を添加し 48 時間後に x-gal 染色を行い染色陽性細胞をカウントし感染効率を算出した。その結果 12.5 MOI にて導入が確認され、100 MOI にて 100% の細胞への遺伝子導入が確認された（参考文献 6 Fig. 1A 参照）。さらに Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクター (ADV/HSV-tk) の活性を評価する実験を行った。50 万個の細胞に ADV/HSV-tk を添加し 48 時間後に細胞よりたん白質を抽出して、thymidine kinase の酵素活性を、トリチウムでラベルしたアシクロビルを用いて測定した。酵素活性は添加するアデノウイルスベクターの用量に依存して増加した。（参考文献 6 Fig. 1B 参照）

② HSV-tk 遺伝子導入と GCV による殺細胞効果（参考文献 7 Fig. 2 参照）

HSV-tk 遺伝子導入と GCV による前立腺癌細胞に対する殺細胞効果を検討するために、マウス前立腺癌細胞株である RM-1、ヒト前立腺癌細胞株である PC-3、DU-145 を用いた。 $2.5 \times 10^4 / \text{cm}^3$ の細胞にそれぞれ ADV- β -gal、ADV/HSV-tk を添加し 24 時間反応させた後、それぞれ PBS もしくは GCV 100 $\mu\text{g}/\text{ml}$ を 72 時間作用させ、生存細胞数をカウントした。ADV- β -gal+PBS 群の細胞数を 100% として補正した。その結果、治療群である ADV/HSV-tk+GCV 群において、対照群

と比較して明らかに生存細胞数の有意な減少を認めた。治療群（100 MOI）での生存細胞分画に関して、ADV- β -gal+PBS 群に対する比率は RM-1 で 31%、PC-3 で 44%、DU-145 で 12% となり、GCV 治療による殺細胞効果を認めた。

B. 実験動物を用いた研究成果（参考文献 6、7 より抜粋）

①HSV-tk 遺伝子導入と GCV による腫瘍増殖抑制効果（皮下腫瘍モデル）

In vivo における本治療法の効果を検討するためにまず、皮下腫瘍モデルを用いた。4×10⁶ 個の RM-1 細胞を C57BL/6 マウス（12 週齢、オス）の皮下に移植し、移植後 3 日目にベクター（ADV- β -gal もしくは ADV/HSV-tk）を腫瘍内に直接注入した。注入量はそれぞれ 5×10⁸ PFU とした。翌日より GCV 100 μ g/kg を連続 6 日間腹腔内投与した。対照群は 3 種類設定し、ADV- β -gal+PBS、ADV- β -gal+GCV、ADV/HSV-tk+PBS とした。移植後 15 日目において治療群のマウスは健康な状態を維持したが、対照群である他の 3 群においては 15 日目までに半数が死亡し、他は 15 日の時点で病的状態を呈し、24~48 時間以内に屠殺を必要とする状態であった。参考文献 6 Fig. 4 に移植後 25 日目までの腫瘍容積の推移を示した。移植後 13 日の時点で計測した腫瘍容積は治療群 295±107 mm³、対照群 1855.2±223 mm³ と統計学的な有意差を認め、ADV/HSV-tk と GCV による増殖抑制効果が確認された（p<0.001、Kruskal-Wallis rank sum）。

治療効果発現のメカニズムを検討するために摘出したそれぞれの腫瘍組織におけるアポトーシスと壊死（ネクローシス）の程度を解析したが、治療群におけるアポトーシスの亢進、壊死領域の増大を認めた（参考文献 6 Fig. 7 参照）。

②HSV-tk 遺伝子導入と GCV 治療による生存実験（皮下移植モデル）

同様の実験系を用いて生存実験を行ったところ、治療群において生存期間の延長を認めた（p<0.001、Mantel-Cox rank test）（参考文献 6 Fig. 5 参照）。

③HSV-tk 遺伝子導入と GCV による腫瘍増殖抑制効果（同所移植モデル）（参考文献 7 Fig. 2 参照）

Thompsonらにより確立された、同所移植マウス前立腺癌を用いて、治療効果の検討を行った。RM-1細胞5,000個を前立腺に移植し、移植7日目に再開腹し前立腺部の腫瘍に対してベクターを

注入した。翌日より6日間GCVを腹腔内投与し、腫瘍移植後14日に屠殺した。前立腺部に発育した腫瘍の重量は治療群と対照群で有意差を認め ($p < 0.0001$, unpaired t test)、皮下移植腫瘍のみならず同所移植腫瘍に対しても、HSV-tk遺伝子導入とGCVによる腫瘍増殖抑制効果が確認された。

④HSV-tk 遺伝子導入と GCV 治療による生存実験 (同所移植モデル) (参考文献 7 Fig. 3 参照)

さらに同様の実験モデルを用いて生存実験を行ったところ、治療群において生存期間の延長を認めた ($p < 0.0001$, Mantel-Cox rank test)。

⑤局所への HSV-tk 遺伝子導入と GCV の全身投与によって誘導される全体的効果 (転移抑制効果) (参考文献 7、8)

Hall は HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの局所投与と GCV の全身投与により、転移抑制という全身効果が存在することを報告し (参考文献 7 Fig. 5 参照)、その機序として、局所における NK 細胞 (natural killer cell) の誘導が、局所のみならず全身の抗腫瘍効果発現に関与していることを突き止めた。

C. 臨床検討における結果

前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase (HSV-tk) 遺伝子を用いた遺伝子治療の研究は、研究協力者である Timothy C. Thompson (ベイラー医科大学・泌尿器科・教授) の研究室において行われており、当該臨床研究計画の研究員である那須保友、および佐藤威文は、それぞれ 1996 年 6 月から 1998 年 7 月、1999 年 11 月から 2002 年 11 月まで同施設に留学し、前立腺癌に対する HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の臨床研究とともに基礎研究に従事した経験を持つ。同研究室における培養細胞ならびに実験動物であるマウスを用いた前臨床試験において、その有効性、安全性が確認され (Hum Gene Ther 7: 515-523, 1996, Int J Can 70: 183-187, 1997)、この結果に基づき 1996 年 1 月に NIH の Office of Recombinant DNA Activities および米国食品 FDA の認可を受け、1996 年 8 月よりベイラー医科大学にて放射線治療後の局所再燃前立腺癌患者を対象とした第 I 相臨床研究が実施された。対象は根治手術不能

例で放射線治療後の局所再燃症例で、かつ内分泌療法未施行の 18 例の前立腺癌患者である。HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクター 10^8 PFU の用量から試験は開始され順次 10 倍量ずつ増量された。17 例目 (10^{11} PFU 投与) までの症例においては発熱 3 例、肝機能異常 3 例、静脈注射部位の蜂窩織炎 1 例が認められたが、いずれも軽度のものであり、経過観察を含めた保存的治療にて軽快した。しかし 18 例目の患者において 10^{11} PFU のウイルスベクター投与後に、高度の血小板減少 ($10,000/\mu\text{l}$) と高度の肝機能障害が出現したためプロトコールの規定により、その時点で試験は中止された。なお、本患者の血小板減少、肝機能障害は可逆的であり、GCV 投与開始 16 日目に臨床検査値は正常値に回復した。臨床効果に関しては PSA が 50%以上下降した症例を 3 例に認めた。有効症例は 10^8 PFU 投与群では認められず、 10^9 PFU、 10^{10} PFU、 10^{11} PFU 投与群においてそれぞれ 1 例に認められた。以上より、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの前立腺局所投与および GCV 全身投与に関する安全性ならびに臨床的有効性は認められたものと判断された。また本治療法は放射線治療、抗癌化学療法と相違し、手技的にも簡便であり、考えられる副作用も他の治療法と比較して軽微であることより、患者の QOL を損なう可能性は極めて低いことも確認された。

その後、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの反復投与による第 II 相臨床研究の結果が第 I 相臨床研究の 18 例を含む計 36 例に行われ、結果が 2001 年 11 月に報告された。それによると、患者血清 PSA 倍化時間の平均は治療前の 15.9 ヶ月から 42.5 ヶ月に延長し、治療を受けた内の 28 例 (77.8%) の血清 PSA レベルが平均 28%低下するといった具体的な臨床効果が確認されている。また 2 回目の治療となる反復投与 (second cycle) においても、再度血清 PSA は平均 29.4%低下することが確認された。これらの第 I/II 相臨床研究においては、HSV-tk 遺伝子を用いたケースとして初めて免疫学的な解析が行われ、病理学的な解析として、同遺伝子治療 2 週間後の前立腺生検病理組織において、CD4 陽性 T リンパ球、CD8 陽性 T リンパ球、アポトーシス (TUNEL 陽性) 細胞について免疫染色での解析を施行した結果、遺伝子治療後にアポトーシス細胞と CD8 陽性 T リンパ球との density (cells/mm^3) に有意な相関関係を認めた。また末梢血におけるリンパ球についてフローサイトメトリーを用いて解析した結果、活性型 (HLA-DR 陽性) CD8 陽性 T リン

ンパ球において、治療前の平均 11.8%から治療 2 週間後には平均 22.9%へと有意な増加を認めた。2 回目の治療においても、活性型 (HLA-DR 陽性) CD8 陽性 T リンパ球は平均 13.1%から、治療 2 週間後には平均 19.3%へと増加を認めた。

治療開始前のアデノウイルス抗体の有無についても検討され、検討した 13 名のうち 5 名 (38%) の症例において、遺伝子治療前にアデノウイルス抗体を有していた。しかしながら、同アデノウイルス抗体陰性症例との比較検討において、血清 PSA 倍化時間の反応に有意な差を認めておらず、同アデノウイルス抗体の存在が limiting factor になるとは断定できないと考えられた (参考文献 13)。

同遺伝子治療と根治的前立腺癌全摘除術との併用療法の検討が、同じく米国ペイラー医科大学泌尿器科において、計 23 名のハイリスク前立腺癌を対象として施行された (参考文献 19)。病理学的に確認された殺細胞効果は、全症例を通して 3~80%の腫瘍体積に確認され (平均 26%、中央値 20%)、殺細胞効果の範囲は、腫瘍体積の大きさや術前の PSA 値に比例して有意に増加していた。また癌細胞における細胞構築の破壊や、核変性などの変化の他、病理学的免疫染色評価において、CD8 陽性 T リンパ球の浸潤や、CD68 陽性細胞 (マクロファージ) の浸潤が確認された。同遺伝子治療群の腫瘍内における CD8 陽性 T リンパ球の細胞数は平均 264 であったのに対し、遺伝子治療未施行のコントロール群における同細胞数は平均 84 であった。さらにアポトーシスの評価 (apoptotic index) において、遺伝子治療群の平均 1.500 に対し、遺伝子治療未施行のコントロール群においては平均 0.872 であり、同遺伝子治療によって有意に増加することが確認された。

また患者末梢血におけるリンパ球についてフローサイトメトリーを用いて解析した結果、活性型 (HLA-DR 陽性) CD8 陽性 T リンパ球において、治療前の平均 16.7%から治療 2 週間後には平均 26.2%へと有意な増加を認めた。同じく CD8 陽性 T リンパ球においても、治療前の平均 18.9%から治療 2 週間後には平均 23.6%へと有意な増加を認めた。

さらに、血清におけるインターロイキン-12 レベルの測定においては、治療開始前の平均 33.9 pg/ml から、治療 1 週間後には平均 50.3 pg/ml へと有意に増加し、治療 2 週間後には平均 26.8 pg/ml へと低下するも、治療 4 週間後の手術直前には、再度平均 40.0 pg/ml へと有意に増加することが確認された。

また国内においても、岡山大学泌尿器科において、内分泌療法再燃前立腺癌を対象として同一ベクターの遺伝子治療が施行され、2001年3月より2005年7月までに8名（のべ9症例）の治療が実施され、9症例すべてにおいて重篤な副作用を認めなかった。また血中PSAは9例中6例（66.7%）において低下し、この6例のPSA減少率（PSA reduction）は6.7～43.9%（平均24.1%）であった（第33回科学技術部会資料3-2）。

本遺伝子治療臨床研究は、共同研究機関である米国バイラー医科大学で行われた上記臨床研究結果を鑑み、腫瘍体積が大きいとされるハイリスク群の前立腺癌症例に対しては、HSV-tk 遺伝子発現アデノウイルスベクターの反復追加投与が、より効果的であると考えられ、当該研究は現時点の見地より考える安全かつ先進的なプロトコールと思われる。また本邦における当該ベクターの2回投与に関しては、共同研究機関である岡山大学にて1名で施行されており、複数回投与の安全性が示唆されているが、当研究においても症例を重ねることで複数回投与の更なる安全性を確認し、かつ外科手術を併用するネオアジュバント療法としての遺伝子治療の安全性も確認したい。また本遺伝子治療においては、直接的な殺細胞効果のみならず、間接的な免疫学的な反応に関しても明らかにし、同治療効果の病理学的な評価を加味することで、アデノウイルスを用いた今後の更なるベクターにおける至適治療回数等のプロトコール、ならびにネオアジュバント療法としての遺伝子治療の確立に反映していきたい。

