


遺 伝 子 治 療 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

(受付番号)

平成11年12月8日

研 究 の 名 称	正電荷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グリオーマの 遺伝子治療臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成12年 1月19日から 平成21年1月19日まで

総 括 責 任 者	所属部局の所在地	名古屋市昭和区鶴舞町65番地 (郵便番号 466-8560)	
	所属機関・部局・職 氏 名	(旧) 名古屋大学大学院医学系研究科・脳神経外科学分野・教授 (新) 医仁会さくら病院 顧問 吉 田 純 (印)	
実 施 の 場 所	所 在 地	名古屋市昭和区鶴舞町65番地 (郵便番号 466-8560)	
	名 称	名古屋大学医学部附属病院	
連 絡 先	氏 名	名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学 (電話番号 052-741-2111/代表)	
	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
総 括 責 任 者 以 外 の 研 究 者	若 林 俊 彦	(旧) 名古屋大学医学部附属病院・遺伝子・ 再生医療センター・准教授 (新) 名古屋大学大学院医学系研究科・脳神 経外科学・教授	患者の選定・説明及び同意の取得
	水 野 正 明	名古屋大学大学院医学系研究科・遺伝子治療 学・准教授	リポソーム・プラスミドの調製と その品質管理と安全性の確認
	梶 田 泰 一	(旧) 名古屋大学大学院医学系研究科・脳神 経外科学・講師 (新) 同上・准教授	薬剤投与・臨床観察・効果判定
	永 谷 哲 也	(旧) 同上・助手 (新) 同上・講師	同 上
	妹 尾 久 雄	(旧) 名古屋大学環境医学研究所・教授 (新) 中部大学・教授	免疫学的評価
	太 田 美 智 男	(旧) 名古屋大学大学院医学系研究科・分子 病原細菌学・教授 (新) 名古屋大学・特命教授	細菌学的評価

審 査 委 員 会 の 開 催 状 況	名古屋大学大学院医学系研究科生命倫理委員会バイオ先端臨床研究審査委員会 において平成22年4月28日及び平成22年5月26日の2回にわたり終了報告を受けた。 その内容は以下のとおりである。		
	審 査 委 員 会 の 長 の 職 名	氏 名	
	名古屋大学大学院医学系研究科 分子細胞免疫学分野・教授	磯部 健一	

研究の区分	○ 遺伝子治療臨床研究 遺伝子標識臨床研究
研究の目的	<p>脳実質内に発生する悪性グリオーマは、腫瘍細胞の増殖が速く、その上正常脳内に浸潤性に発育するため手術で全摘出することが不可能である。通常手術後、放射線療法、化学療法、免疫療法を駆使した集学的治療が行われているが、残念ながら現時点では余命が2年以下と極めて予後不良である。そこでこうした悪性グリオーマに対する新しい治療法として遺伝子治療の開発に期待が寄せられている。我々は安全性が高い日本独自の遺伝子治療法を開発する目的で「正電荷リボソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究」を行い、本治療法の安全性と有効性を評価する。本臨床研究に用いるプラスミドとリボソームは名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療製剤調製室で調製し、臨床研究は同附属病院にて行う。なお本臨床研究でいう悪性グリオーマとは膠芽腫または悪性星細胞腫をさす。</p>
対象疾患	膠芽腫及び悪性星細胞腫
実施方法	<p>1. 本臨床研究の対象者の選択基準および除外基準</p> <p>①組織学的に悪性グリオーマ（悪性星細胞腫または膠芽腫）と確認されており、かつ腫瘍摘出術後にこれまで有効性が確認されている放射線療法、化学療法、免疫療法等の補助療法を施行したにも拘わらずCT・MRI検査により腫瘍の再発あるいは増悪進行が確認された症例から選択する。</p> <p>②腫瘍の局在及び浸潤度がCT・MRI等の画像診断にて確認できる症例から選択する。</p> <p>③腫瘍の直径が3 cm以下でしかも髄腔内播種のない比較的限局している症例から選択する。</p> <p>④一般状態を評価するために施行された病歴（家族歴、既往歴を含む）聴取、身体検査、記銘力評価、脳波検査、頭部CT・MRI・PET、尿・血液検査等の結果、重篤な合併症が無い症例を選択する。</p> <p>⑤18才以上の男女を対象とし、妊娠している可能性のある場合や、母乳育児中の場合及び70才以上の高齢者は除外する。</p> <p>2. 目標症例数 25例。</p> <p>3. 遺伝子治療臨床研究の実施方法</p> <p>①遺伝子導入法 本臨床研究ではpDRSV-IFNβ包埋リボソーム製剤IAB-1（凍結剤または凍結乾燥剤）を用いる。</p> <p>(1) 初期治療 臨床研究はまず再度開頭術を行い、可及的に腫瘍を摘出した後、取り残した腫瘍内に、遺伝子治療製剤を30 μg DNA、総量として1 mlを直視下に数カ所に分けて直接注入する。その後、この腫瘍摘出腔内にオンマヤ貯留槽を設置しておき、術後にこの貯留槽を介して腫瘍内溶液を採取し、遺伝子発現の有無及び発現量について経時的に測定する。更に、術後2週間目より神経内視鏡または定位脳手術装置（ナビゲーションシステムを含む）を介して腫瘍内に遺伝子治療製剤を30 μg DNA、総量として1 mlを注入する。この処置は週1回の割合で施行し、合計3回を予定する。ただし、患者の状態や投与前の生検の結果により、投与回数は適宜調整する。</p> <p>(2) 追加治療 追加治療の対象となる患者の選択条件を以下に示す。</p> <p>1) 初期治療（1クール）開始後3ヶ月目に行う評価で安全性が確認されていること。</p> <p>2) 治療開始後3ヶ月目のCTあるいはMRIで有効性（「不変」以上の効果をもって「有効性あり」と判断する。）が認められていること。</p> <p>3) 生検試料で病理学的抗腫瘍効果が確認されていること。</p>

4) (1) (2) (3)を満たし、かつCTまたはMRIで腫瘍の残存を認める患者で、追加治療を希望した者を対象とする。

追加治療は治療終了後3ヶ月目の評価後行う。治療は定位的脳手術により遺伝子治療製剤を週1回の割合で、合計3回3週間にわたり腫瘍内に直接注入する。これを1クールとする。投与量は1回30 µg DNAとする。1クール終了後の評価で画像診断上腫瘍の完全消失を見ないときには、最大3クールまで行えるものとする。ただし、患者の状態や投与前の生検の結果により、投与回数は適宜調整する。

②臨床検査項目及び観察項目

(1) 臨床症状、特に神経症状の変化を十分観察する。

(2) 適時 CT あるいは MRI による画像診断を行う。できればグルコースあるいはメチオニンをマーカーとする PET を施行する。

(3) オンマヤ貯留槽を介して腫瘍腔内溶液を採取し、遺伝子産物であるヒトβ型インターフェロンを測定する。また細胞診を行うとともにRT-PCR 法によりヒトβ型インターフェロンの mRNA について解析する。

(4) 臨床上の必要に応じては手術を施行するが、その際、摘出組織についてはヒトβ型インターフェロンの発現の有無及びその部位について検討するとともに、顕微鏡的及び電顕的観察を行い、抗腫瘍効果の性状（アポトーシス、免疫反応等）について検討を加える。

(5) 入院中は月1回脳波検査を行う。

(6) 入院中は週1回尿及び末梢血を採取し、各種血液・生化学検査を施行する。

(7) 免疫学的検討事項

免疫学的検討項目を以下に示す。

1) 摘出組織：

- ・ HE、免疫染色 (CD3, 4, 8, macrophage, NK, Apoptosis)
- ・ 遺伝子レベルでのサイトカイン発現 (IFN-β, TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6)

2) 血液：

- ・ PCR(plasmid DNA)
- ・ CD4/8
- ・ 抗プラスミド抗体
- ・ 蛋白レベルでのサイトカイン発現 (IFN-β, TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6)

3) 尿

- ・ PCR(plasmid DNA)
- ・ 細胞診

4) 腫瘍摘出腔内貯留液または髄液

- ・ PCR(plasmid DNA)
- ・ 細胞数、細胞診
- ・ 遺伝子レベルでのサイトカイン発現 (IFN-β, TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6)
- ・ 蛋白レベルでのサイトカイン発現 (IFN-β, TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6)

4. 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準

(1) 安全性の評価

① 神経学的評価

NCI-CTC Neurologyに準じて評価及び判定を行う。

② 血液、髄液、尿の検査所見、免疫学的検査、遺伝子発現などの検索により行う。

(2) 治療効果の評価

	<p>①primary endpoint</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 画像上の抗腫瘍効果 2) 遺伝子治療製剤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 <p>②secondary endpoint</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 遺伝子治療製剤が最初に投与された日からの生存期間 2) 機能的改善を得た期間 3) 臨床症状と神経症状の改善度の評価 Japan Stroke Scaleに準じて臨床症状と神経症状の評価及び判定を行う。 <p>(3)中止判定基準</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) 重篤な有害事象とは以下に示すような生命に直接危機を及ぼす可能性のあるものと定義し、これが発生しかつ今後治療の継続が困難と判断された場合、中止する。 <ol style="list-style-type: none"> 1. 外科的治療が必要とされる出血 2. アナフィラキシーショック 3. その他、重篤な臓器障害 <p>なお有害事象が発生した場合、臨床研究担当者はそれを詳細にカルテに記載すると同時に本院に設置されている遺伝子治療臨床研究審査委員会に報告し、その重篤さの程度を検討してもらい、中止すべきか否かの判断を下してもらう。</p> 2) 患者が拒否した場合、または主治医が無効例と認めた場合は中止する。 <p>5. 遺伝子治療臨床研究の責任の所在</p> <p>本遺伝子治療臨床研究において、万一事故が発生した場合、その最終的責任は総括責任者が負うものとする。</p>
<p>研究結果の概要 及び考察</p>	<p>本臨床研究の目標症例数は、平成15年から6年間の研究期間延長申請とともに全体で25例と定めたが、以下に示すように申請後、悪性グリオーマに対する（標準的）治療方法が大きく変化したため、本臨床研究の選択基準及び除外基準②の「腫瘍の局在及び浸潤度がCT・MRI等の画像診断にて確認できる症例から選択する。」に合致する症例がほとんどいなくなった。これを受けて、本臨床研究については、本臨床研究の対象者の選択基準および除外基準の変更や研究期間のさらなる延長等の計画変更を加えて研究の継続を図るなど種々の検討を行ったが、5症例実施で本臨床研究を終了することになった。</p> <p>【悪性グリオーマに対する（標準的）治療方法の変化】</p> <p>1. 悪性グリオーマに対する新薬テモゾロミドの登場</p> <p>2006年9月15日、シュering・プラウ株式会社(本社:大阪市中央区 社長:鳥居正男)から悪性グリオーマの治療薬、「テモダール®カプセル20mg/100mg」(Temodal®Capsule 20mg/100mg)(一般名:テモゾロミド)が発売された。本剤は1999年にEUで初めて承認され、その後も海外において悪性グリオーマに対する治療効果が従来の薬剤と比較して極めて高いことが示されたことから、わが国においても本剤の国内承認以前の2003年ころから個人輸入による国内での使用が見られるようになった。当時より初発例、再発例いずれにも有効事例が多く報告されたことから、国内認可を待たずに本剤が悪性グリオーマに対する（標準的）治療になりつつあった。さらに2006年（平成16年）の国内発売後は、本剤が本臨床研究の選択基準及び除外基準③で記載されている補助療法（上記の本臨床研究の選択基準及び除外基準参照）に加わったと考えられたことから本剤による治療が優先されるようになった。</p> <p>一方、初発・再発を問わず、本剤による治療後、その有効性が十分でない判断された症例はほぼ全例で脳内への広範な浸潤や髄腔内播種を認めており、本臨床研究の選択基準及び除外基準④にある「再発例、初発例を問わず、腫瘍の直径が3cm以下でしかも髄腔内播種のない比較的限局している症例から選択する。」を満たす症例がな</p>

なくなった。また、これまで治療法がないとされてきた第2グループ、すなわち脳深部の悪性グリオーマに対しても本剤が適応されることとなり、本剤の治療後は先に記したように、本臨床研究の選択基準及び除外基準④を満たさなくなっていた。

2. コンピュータ支援下の画像誘導手術の登場

近年、手術室内に設置されたMRI装置を活用することで以前よりさらに緻密で安全な手術が可能になり、従来は難しいと判断されていた脳深部の悪性グリオーマや再発症例に対する手術が行われるようになった。このような手術適応の拡大が治療成績の向上にどう繋がっていくのかについては現在検討中であるが、MRI装置を活用する手術方法は今後悪性グリオーマの標準的手術治療になっていくものと思われる。

次に本臨床研究を実施した5症例の研究結果及び評価結果を以下に示す。

1. 研究結果

- (1) 名古屋大学では、遺伝子治療製剤「ヒトβ型インターフェロン遺伝子包埋リポソーム(IAB-1)」の液剤、凍結剤、凍結乾燥製剤を学内遺伝子治療製剤調製室で調製し、その品質評価を第3者機関に委託した。委託結果を元に、製剤の品質について学内臨床研究審査委員会製剤検証部会で検討後、臨床研究に使用した。
- (2) 対象症例は、いずれも学内臨床研究審査委員会の安全・効果評価、適応判定部会で承認された再発悪性グリオーマ(膠芽腫1例、悪性星細胞腫4例)の5症例で、2000年4月3日より2002年4月1日までの2年間に臨床研究を実施した。その後さらに2年間の経過観察を行った。
- (3) 遺伝子治療製剤の投与回数は2~6回、総投与量はDNA量として30~120μgであった。
- (4) 安全性については、本治療と直接関係が疑われた合併症として脳浮腫と髄液貯留が認められた。しかし、いずれも重篤なものではなかった。
- (5) 有効性については、1例(第4例)の判定保留を除き、他の4症例すべて有効と判定された。画像診断上の抗腫瘍効果は治療開始後3ヶ月で2例が不変、2例が有効(50%以上の腫瘍縮小率)と判定された。
- (6) 5症例のうち4症例に遺伝子発現(蛋白あるいはmRNAレベル)を確認したが、治療前にガンマナイフ治療を受けた第4例では確認できなかった。
- (7) 治療時に採取した腫瘍組織は病理学的検査の結果、腫瘍細胞のアポトーシスと製剤注入部位に一致した壊死が観察された。さらに免疫組織染色にて腫瘍内に多数のマクロファージとCD8陽性細胞を中心とするT細胞の浸潤が確認された。
- (8) 長期経過観察の結果、腫瘍再増大までの期間は、症例ごとに3、19、19、6、5ヶ月であり、長期寛解が認められた2症例では1例が家庭内復帰、1例が職場復帰を果たした。
- (9) 2003年12月31日までに5例全例死亡したが、治療後の生存期間は6ヶ月から29ヶ月、発症からの全経過は20ヶ月から75ヶ月であった。
- (10) 4症例(第2、3、4、5症例:ただし、第5例は腫瘍のみ)で剖検が行われ、注入部位には限局性壊死変性が認められたが、腫瘍細胞の増殖はなく、炎症性変化等明らかな有害事象と考えられる所見はなかった。腫瘍は主として脳室壁に沿って、あるいはくも膜下腔の播種として増大し、いずれも腫瘍死に至ったと診断された。

2. 評価結果

(1) 安全性の評価

本遺伝子治療で認められた有害事象は以下のようである。

・遺伝子治療製剤と直接関連性が疑われる有害事象

一過性の脳浮腫に伴う頭痛(第1、4、5症例)と麻痺の増悪(第5症例)である。いずれもステロイドの投与にて軽快した。

・外科的手術一般に伴う有害事象

髄液鼻漏(第3症例)、頭皮下髄液貯留(第4、5症例)、髄膜炎(第4症例)、頭皮の脆弱化(第5症例)、気胸(第5症例)、手術操作または術中・術後の