

## 遺伝子治療臨床研究実施計画の申請について (京都府立医科大学附属病院)

### (遺伝子治療臨床研究実施計画の申請)

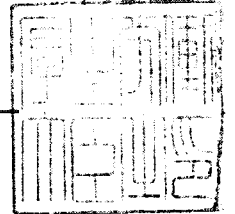
- 諮問及び付議.....P1
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書及び概要書..... P3
- 同意説明文書.....P17
- 厚生科学審議会科学技術部会がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 .. P78

厚生労働省発科第 0822001 号  
平成 20 年 8 月 22 日

厚生科学審議会会長

久 道 茂 殿

厚生労働大臣 舛 添 要



諮 問 書

下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、その医療上の有用性及び倫理性に関し、厚生労働省設置法（平成 11 年法律第 97 号）第 8 条第 1 項第 1 号イ及び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）の規定に基づき、貴会の意見を求めます。

記

平成 20 年 7 月 30 日に京都府立医科大学附属病院から提出された「ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」計画

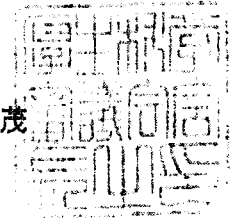
厚科審第14号  
平成20年8月22日

科学技術部会部会長

垣添 忠生 殿

厚生科学審議会会長

久道 茂



遺伝子治療臨床研究実施計画について（付議）

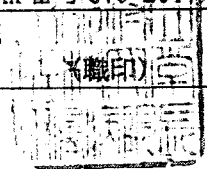
標記について、平成20年8月22日付け厚生労働省発科第0822001号をもって厚生労働大臣より諮問があったので、厚生科学審議会運営規程第3条の規定に基づき、貴部会において審議方願いたい。

# 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成20年7月30日

厚生労働大臣 様

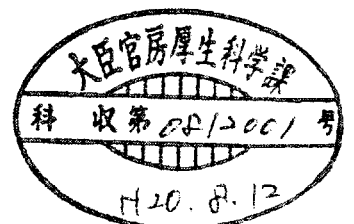
実施施設	所在地	郵便番号 602-8566 京都市上京区河原町通広小路上ル梶井町416
	名称	京都府立医科大学附属病院 電話番号 075-251-5243 FAX番号 075-251-5356
	代表者 役職名・氏名	京都府立医科大学附属病院 附属病院長 木下 茂



下記の遺伝子治療臨床研究について、別添の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
ヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リボソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究	京都府立医科大学 大学院医学研究科泌尿器外科学 教授 三木 恒治



# 遺伝子治療臨床研究実施計画概要書

	平成20年7月30日
--	------------

研究の名称	ヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リボソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究
研究実施期間	厚生労働大臣による了承の日より8年間

総括責任者	所属部局の所在地	京都市上京区河原町通広小路上ル (郵便番号 602-8566)	
	所属機関・部局・職	京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 教授	
	氏名	三木 恒治	
実施の場所	所在地	京都市上京区河原町通広小路上ル (郵便番号 602-8566)	
	名称	京都府立医科大学附属病院	
	連絡先	京都府立医科大学附属病院泌尿器科 (電話 075-251-5595)	
総括責任者以外の研究者	氏名	所属機関・部局・職	役割
	水谷 陽一	京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 准教授	遺伝子製剤の調製と投与、効果判定
	河内 明宏	京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 准教授	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	沖原 宏治	京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 講師	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	高羽 夏樹	京都府立医科大学医学部医学科腫瘍薬剤制御学 准教授	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	吉田 純	名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学 教授	本臨床研究に対する基礎的、臨床的指導と助言
	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	遺伝子製剤の調製、品質管理、安全性の確認

審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由	別紙(1)のとおり		
	審査委員会の長の職名	氏名	
	京都府立医科大学大学院医学研究科分子病態病理学 教授	伏木 信次	

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>原発腫瘍病巣を手術で摘除した後、転移巣に対して行ったインターフェロン、インターロイキン 2 を含む免疫療法が無効であった予後がきわめて不良な進行期腎細胞癌患者に対する新しい治療法として、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤による遺伝子治療を実施する。本臨床研究は第 I / II 相試験で、その主要な目的は本治療法の安全性の評価である。また、副次的な目的は本治療法の有効性の評価である。具体的には原発腫瘍病巣を手術で摘除し、病理組織学的に腎細胞癌の診断が確定している転移を有する腎細胞癌患者の肺・リンパ節などの転移腫瘍病巣内に遺伝子製剤を注入し、その安全性について検討するとともに、局所のおよび全身の効果を判定する。本臨床試験にて安全性及び有効性が確認されれば、第 III 相試験を実施し、最終的に本治療法を新たな進行期腎細胞癌に対する治療法として確立することが目的である。</p>
対象疾患及びその選定理由	<p>わが国の腎細胞癌による罹患率は年々増加する傾向にあり、現在の罹患率は 10 万人当たり 8~10 人である。遠隔転移等を生じた進行期腎細胞癌患者の 5 年生存率は 10%程度であり、生存期間中央値は約 6~12 ヶ月ときわめて短い。進行期腎細胞癌に対しては、インターフェロンに代表される免疫療法が最も有効とされている。しかし、本邦で一般的に使用される <math>\alpha</math> 型インターフェロンの単独療法での奏効率は約 15~20%で、ほとんどの症例に完全寛解は認められず、満足のいくものではない。また、<math>\alpha</math> 型インターフェロンの副作用として、発熱、全身倦怠が発生する。近年、転移性腎細胞癌に対する免疫療法の奏効率向上のため、インターロイキン 2 に代表される他のサイトカインやインターフェロンと各種抗癌剤の併用療法などが試されている。しかし、これまで報告されたインターロイキン 2 単独療法の奏効率は 10~20%であり、発熱、全身倦怠等の副作用も高頻度に発生する。また、インターフェロンと各種抗癌剤との併用効果も臨床的には確認されておらず、明らかにこれまでのインターフェロンの単独療法の奏効率を上回る治療法は認められていないのが現状である。また、腎細胞癌は化学療法に抵抗性の癌といわれており、その奏効率も 10%未満である。放射線療法に関しても、骨転移に対して疼痛の緩和など、対症療法としての効果はあるが、転移性腎細胞癌患者の生存期間の延長を明らかに認めたという報告はない。このように、進行期腎細胞癌に対しては、インターフェロン・インターロイキン 2 などを使用した免疫療法を超える治療法は、現時点では認められず、その奏効率自体も低い。したがって、新たな治療法の開発が急務である。</p> <p>我々はすでに腎細胞癌細胞株を IAB-1(ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム)で処理した場合に、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白で処理した場合に比べてもはるかに高い細胞障害活性がみられ、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白処理では誘導できないアポトーシスが IAB-1 処理によって効率よく誘導できることを報告している。さらに同遺伝子が導入され、発現された腎細胞癌細胞からは、局所に一定期間持続的に高濃度のヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白が産生されるので、遺伝子が導入されなかった周囲の癌細胞にも直接障害効果がおよぶことが考えられる。特に、SCID マウス 皮下移植ヒト腎細胞癌株 NC65 腫瘍に対し IAB-1 によるヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン遺伝子の複数回導入を試みた</p>

	<p>ところ、治療開始後 30 日目で有意な増殖抑制効果を認めた。一方、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白投与では一時的に増殖は抑制されるものの、治療終了後比較的早期から再増殖を開始し、治療開始後 30 日の時点では有意な増殖抑制効果は認められなかった。これらのことから、基礎実験においてはインターフェロン蛋白投与を上回る治療効果を得られることが期待されている。</p> <p>そこで、IAB-1(ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)の腎細胞癌病巣への直接投与が、進行期腎細胞癌に対する有効な治療法となり得るか否かを検討するため、今回の臨床研究を計画した。</p>
<p>遺伝子の種類及びその導入方法</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究で導入される遺伝子はヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン遺伝子である。遺伝子導入用プラスミドの調製方法としては、制限酵素 <i>Sma</i>I 及び <i>Hind</i>III で消化してえられたヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン構造遺伝子を含む断片を動物細胞発現ベクター pRc/RSV (Invitrogen 社)の制限酵素 <i>Xba</i>I 及び <i>Hind</i>III 部位に挿入することによりヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFN <math>\beta</math> を構築している。さらに、制限酵素 <i>Bam</i>HI で消化して約 2kb の不要断片を欠失させ、ライゲーションにより遺伝子治療臨床研究用プラスミド pDRSV-IFN <math>\beta</math> (3,674bp)を得ている。</p> <p>また、Transformant の調製と導入プラスミドの大量調製および純度検定については、臨床応用に十分に耐えうる純度の導入プラスミドであることが確認されている。</p> <p>腎細胞癌転移巣への遺伝子導入は前述のヒト <math>\beta</math> 型インターフェロンの cDNA を組み込んだ遺伝子発現プラスミドを正電荷多重膜リポソーム[構成成分; N-(<math>\alpha</math>-トリメチルアンモニオアセチル)-ジドデシル-D- グルタメイト クロライド (TMAG)、ジラウロイル-ホスファチジルコリン (DLPC) 、ジオレオイル-ホスファチジルエタノールアミン (DOPE)]に包埋して行う。粒子径は 0.5-2<math>\mu</math>m である。このようにして調製された、内部にヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミドを包埋する正電荷リポソーム製剤が IAB-1 である。なお、この IAB-1 の調製法は名古屋大学でグリオーマに対して、信州大学で悪性黒色腫に対して行われた遺伝子治療の臨床研究で用いられた IAB-1 と同じである。主としてエンドサイトーシスの機序で内容物(プラスミド DNA)が細胞内へ取り込まれ、その遺伝子導入効率率は細胞の種類にもよるが、10-20%程度であり、それほど高いものではない。しかし、細胞毒性は低く、正常細胞ではほとんど発現がみられない。さらに、この方法では主として分裂中の細胞に遺伝子発現が認められることが示されており、分裂細胞が多数含まれている癌病巣への局所注入は、腫瘍細胞への選択的発現という点からも利点を有する。本遺伝子治療臨床研究では、IAB-1 を超音波あるいは CT ガイド下に、注入用穿刺針を用いて経皮的に癌病巣に局所注入する。</p>
<p>安全性についての評価</p>	<p>本臨床試験に用いる遺伝子製剤 IAB-1 は我々が共同研究者と共に名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて作製し、その凍結乾燥製剤をドライアイス入り発泡スチロール箱に入れて当施設へ運搬し、専用の 4<math>^{\circ}</math>C 冷蔵庫に保管、管理し、生物活性を確認後に臨床研究に供する。本臨床研究に用いる IAB-1 については、各種の細胞において 10<math>\mu</math>M 以下では毒性はほとんど認められず、細胞増殖も抑制されない。生体内分布と時間的移行については、IAB-1 をマウスの脳内に投与した後の各臓器への移行により検討を行っている。臨床用量の約 10 倍のプラスミドが投与されているが、1ヶ月後</p>

	<p>の結果からは、通常の臨床用量の投与であれば、精巣を含め脳以外の臓器では検出感度以下と考えられる。IAB-1 が長期間にわたり残存する可能性はほとんどないと推測される。今回の臨床研究では、腫瘍結節内へ製剤を局注するため、腫瘍周囲の正常組織が本製剤に曝露される可能性は低く、よって正常細胞において本遺伝子が発現される可能性は極めて低いと考えられる。また、今回のようなリポソームによる遺伝子導入では分裂細胞にのみ遺伝子が導入、発現されることが明らかにされていることより、腫瘍周囲の正常組織が本製剤に曝露されたとしても、正常細胞に遺伝子発現がみられる可能性は極めて低いと推察される。実際我々は、ヒト腎近位尿細管細胞(RPTEC5899)に対し IAB-1 処理を行い正常細胞に対する影響を検討したが、有意なヒト <math>\beta</math> 型インターフェロンの分泌は認められなかった。以上より、非分裂期の正常細胞に遺伝子導入が起こったとしても、有意な遺伝子発現にまではいたらないものと推察される。さらに癌病巣内に投与された本製剤が血中に入ったとしてもその量は微量であり、正常細胞にはほとんど影響を及ぼさないとと思われる。その投与の際にも厳重な清潔操作で行い、細菌感染の心配はほとんどないと考えられる。我々が行った腎細胞癌培養細胞株によるマウス皮下腫瘍モデルの実験結果より算出した投与量は腫瘍体積の約 2 倍となるため、本遺伝子治療での投与量は物理的に投与可能と考えられる腫瘍体積と同容積とし、上限を DNA 量 250 <math>\mu</math>g とした。これは、信州大学の 1 回あたり最大投与量 150 <math>\mu</math>g DNA、最大総投与量 2.7 mg DNA および名古屋大学の 1 回あたり最大投与量 30 <math>\mu</math>g DNA、最大総投与量 180 <math>\mu</math>g DNA を上回る投与量である。なお、上記のごとく信州大学医学部附属病院では 5 例の悪性黒色腫患者に、名古屋大学医学部附属病院では 5 例のグリオーマ患者に、IAB-1 が投与されたが、とくに問題となる副作用は認められなかった。本製剤の抗腫瘍効果を始めとする薬理作用や生体内での薬物動態についてもラット及びカニクイザルを用いた静脈内及び脳内投与試験で確認されている。本研究での最大投与量である DNA 量 250 <math>\mu</math>g はラットでの静脈内連日投与試験の結果より算出される 1 回投与最大量の約 40%となる。また、本研究での最大投与量である DNA 量 250 <math>\mu</math>g にて 3 コースの治療を受けた場合の総投与量は、ラットでの静脈内連日投与試験の結果より算出される投与限界量よりはるかに低く（男性 14%、女性 9%）、1 回投与量、総投与量とも安全量の範囲内であると考えられる。なお、IAB-1 製剤の品質については、pH、浸透圧比、純度試験、発熱性物質試験、無菌試験を含む対象項目につき保存されている凍結乾燥製剤の品質規格試験を行い、品質の安定性と安全性の確保を行っている。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能と判断する理由</p>	<p>前項で記載したように、遺伝子製剤 IAB-1 は我々が共同研究者と共に名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて作製し、当施設へ運搬し、使用するまで安全に保管、管理する予定であるが、その設備が名古屋大学、京都府立医科大学共に十分備わっている。</p> <p>京都府立医科大学附属病院は大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドラインの要項を満たし、京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会も置かれている。総括責任者の三木および共同研究者(水谷、河内、沖原、高羽)は京都府立医科大学附属病院泌尿器科を中心にこれまでに過去 5 年間に限定しても 200 例以上の腎細胞癌の治療に携わって</p>



	<p>きており、十分な臨床経験を有するとともに、腎細胞癌の新しい治療法の開発研究のための臨床的研究（転移性腎癌に対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植、腎細胞癌に対する用手補助下腹腔鏡下根治的腎摘除術など）ならびに基礎的研究（腎細胞癌に対する遺伝子治療・新規免疫療法・分子標的治療などの基礎的検討、腎細胞癌の遺伝子解析やバイオマーカーの検討など）を行い、多方面にわたって成果を挙げている。三木は厚生科学研究費補助金（効果的医療技術の確立推進臨床研究事業）固形癌に対する同種細胞免疫療法を用いた標準的治療法の確立に関する研究の班員であり、日本泌尿器科学会評議員、日本癌治療学会理事、日本癌学会評議員、日本泌尿器科学会ゲノム委員会委員などを現在務めている。さらに京都府立医科大学泌尿器科学教室には、泌尿器科疾患ゲノム解析研究会、医師主導型の多施設共同臨床研究である難治性精巣腫瘍に対する Irinotecan、Nedaplatin 併用化学療法の事務局が置かれている。このように京都府立医科大学附属病院泌尿器科は日本における泌尿器癌の遺伝子解析、治療の面で中心的施設として高く評価されている。</p> <p>また、共同研究者の吉田と水野は IAB-1 を用いた遺伝子治療につき基礎的研究から臨床研究に到るまで、これまで多くの研究成果を上げ、旧文部省、旧厚生省の認可を受けた上で、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た悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究を開始している。今回の腎細胞癌に対する遺伝子治療に関しては、名古屋大学医学部脳神経外科と京都府立医科大学泌尿器科は1999年より共同研究を開始し、<i>in vitro</i>, <i>in vivo</i> の基礎実験において本遺伝子治療製剤が腎癌細胞にも有効であることを明らかにしている。マウス皮下腫瘍モデルを用いて我々が行った実験では、腫瘍（長さ7mm、幅5mm[腫瘍体積は約87.5<math>\mu</math>l]）内に、30<math>\mu</math>gのDNAを注入（0.34<math>\mu</math>gDNA/<math>\mu</math>l腫瘍）することにより、腫瘍の増殖の抑制が認められた。本遺伝子治療臨床研究で同様の割合で、IAB-1（0.10~0.17mg/ml）を用いると、腫瘍体積の約2倍の容積の製剤の投与が必要となるため、投与の上限を物理的に投与可能と思われる腫瘍体積と同容積まで、もしくはDNA 250<math>\mu</math>gとした。</p> <p>以上のように、本臨床研究チームは、研究遂行に必要な十分な能力を備えており、万全の体制を整えているといえる。</p>
実施計画	<p>1. 本臨床研究の対象者の適格基準及び除外基準 選択基準</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 原発腫瘍病巣を手術で摘除し、病理組織学的に腎細胞癌の診断が確定している転移を有する患者（臨床病期IV期もしくは術後に転移を認めた場合）。</li> <li>② 本臨床研究への参加について、十分な同意（インフォームドコンセント）が得られている患者。</li> <li>③ 治療前に肉眼的あるいは胸部 X 線写真、超音波、CT、MRI などの画像検査で、腫瘍径などの評価可能な病変を有する患者。</li> <li>④ 転移巣に対して、これまで有効性が確認されているインターフェロン、インターロイキン 2 を含む免疫療法を施行したにもかかわらず、無効であった患者、あるいはこれらの治療の適応がないと判定された患者。ただし、前治療が行われた患者については、治療終了から4週間以上経過</li> </ol>

し、その影響が認められない患者。

- ⑤ 生命予後が6ヶ月以上と考えられる患者。
- ⑥ 超音波あるいはCTガイド下にIAB-1の注入が安全に施行可能と判断される患者。
- ⑦ 尿・血液検査などの結果、重篤な合併症が無く、原則として血液データが下記を満足する患者。
  - 白血球数 $>3000/\mu\text{l}$
  - 血小板数 $>100,000/\mu\text{l}$
  - ヘモグロビン $>8.5\text{ g/dl}$
  - 出血・凝固時間:正常値範囲内
  - 血清ビリルビン $<2.5\text{ mg/dl}$
  - sGOT・sGPT $<50\text{ U/l}$
  - 血清クレアチニン $<1.5\text{ mg/dl}$
- ⑧ 40歳以上75歳未満の患者。
- ⑨ ECOG performance status が Grade 0 または1の患者。
- ⑩ 導入遺伝子の生殖腺への分布の可能性が完全には否定できないことから、最終の遺伝子治療後、最低1年間は確実な避妊法を行うことができる患者。

#### 除外基準

- ① Sarcomatoid RCC、collecting duct carcinoma
- ② 中枢神経系の転移を有する患者。
- ③ 狭心症、心不全の患者。梗塞後1年以上経過していない心筋梗塞の患者。
- ④ コントロール不可能な糖尿病や高血圧のある患者。
- ⑤ 活動性のウイルス性肝炎のある患者。
- ⑥ HIV 抗体が陽性の患者。
- ⑦ 精神病、または精神症状を有しており、臨床研究への参加が困難と判断された患者。
- ⑧ 妊娠中の女性、妊娠の可能性のある女性、授乳中の女性。
- ⑨ 活動性の重複癌を有する患者。
- ⑩ 活動性の感染症を有する患者
- ⑪ 前処置を含む本臨床研究に用いる薬剤に対して、過敏症の既往を持つ患者。
- ⑫ 本臨床研究参加前4週間以内に他の治験または臨床研究に参加している場合、もしくはその影響が認められると考えられる場合。
- ⑬ その他、担当医の判断で不適当と見なされた患者。

#### 2. 遺伝子治療臨床研究審査委員会および安全・効果評価・適応判定部会

当施設において行う遺伝子治療臨床研究について、遺伝子治療臨床研究に関する指針に基づき審査を行うことを目的として京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会(以下「審査委員会」という。)が設置されている。さらに、被験者の適応性の判断、治療の有効性および安全性の判定を目的に、審査委員会の下に、遺伝子治療臨床研究ごとに安全・効果評価・適応判定部会(以下「判定部会」という。)が設置される。本遺伝子治療臨床研究についても、判定および判断を客観的に行うため、学外より腎細胞癌の専門医2名が入る判定部会が設置されている。審査委員会の諮問に応じて、判定部会では主に以下の3点が検討され、その結果が審査委員会に報告される。

- 1) 登録時および治療追加時の被験者の適格性の判断
- 2) 治療1コースごとの有効性、安全性の判定と本遺伝子治療追加の可否に関する意見
- 3) 有害事象と本遺伝子治療の因果関係の判定と本遺伝子治療継続の可否に関する意見

審査委員会では、判定部会の判断、判定につき審議し、これらに関する最終決定を行う。この決定に基づき、本遺伝子治療の開始、および治療追加または継続の可否についても最終決定する。これらの決定は委員長の責任のもとに行い、審議結果は病院長へ報告される。

### 3. 実施期間及び目標症例数

本研究の実施期間は病院長の了承を得られてからすべての患者の臨床研究に関する登録が終了するまで3年間を予定している。前述の選択基準、除外基準に照らした上で適格症例であると判定部会が判定し、審査委員会で評価・承認された後に、文書による同意が得られた時点で本臨床研究に登録されるものとする。さらに治療開始後5年間の効果判定、予後調査なども含めた経過観察を行なう。本治療法の臨床研究は5症例を予定する。本研究の実施期間は厚生労働省の承認が得られた時点から8年間とする。

### 4. 遺伝子治療臨床研究の実施方法

#### ① 遺伝子導入方法

本臨床研究では IAB-1 の凍結乾燥製剤を用いる。1%キシロカイン®による穿刺部の浸潤麻酔を施行した後、超音波あるいは CT ガイド下に、腎細胞癌の転移病巣内に、リン酸緩衝液 1ml 中に 30 μgDNA を含有する製剤を注入する。穿刺に際しては、超音波あるいは CT ガイド下穿刺用の穿刺針を用いる。腫瘍あたりの注入量は、腫瘍体積(長径×(短径)<sup>2</sup>×0.5(ml))を上限とし、1回当たりの注入最大 DNA 総量は 250 μg とする。注入は週 2 回、合計 6 回を予定する。第 1 例目の 1 回目治療では投与量を 30 μgDNA までとして安全性を確認する。第 1 例目の 2 回目の治療以降は上述の投与量まで dose escalation し、1 回当たりの DNA 注入総量を 250 μg までとする。各症例について投与開始から 4 週間後と 8 週間後に安全性と有効性を主治医が評価し、さらに投与開始から 10 週間後に安全性(有害事象と治療の因果関係を含む)と有効性を判定部会が判定し、審査委員会が最終的に評価する。1 コースは遺伝子治療 3 週間、経過観察期間 5 週間の計 8 週間とする。その結果、安全性が確認され、かつ IAB-1 を注入した病巣の一つ以上で PR (有効)以上の反応が認められ、かつ開始より 10 週間目の判定部会により安全性が確認され、追加治療可能と判定後に審査委員会でも評価・承認されれば、患者が追加治療を希望した場合にのみ、上述と同様の遺伝子治療をさらに 2 コース追加できるものとする。ただし、その追加コースごとに判定部会により適格性があると判定され審査委員会でも評価・承認された後に、患者より同意書を得ることとする。また、第 1 例目の治療開始 10 週目の判定部会の判定後に審査委員会の評価において、安全性が確認された場合に限り、第 2 例目の遺伝子治療を開始する。第 2 例目の 1 回目以降の投与量は、上述の通り、腫瘍体積と同容積を上限とし、1 回当たりの注入最大 DNA 総量は 250 μg とする。以降の(第 n+1 例)に対する遺伝子治療の開始も、同様に第 n 例の 10 週目の判定部会の判定後に審査委員会の評価において、安全性が確認された場合に限り、実施する。

#### ② 臨床検査項目及び観察項目

- 1) 臨床症状を十分に観察する。
- 2) 超音波、CT あるいは MRI などにて治療開始後 3 週間は週 2 回、それ以

降 8 週目までは原則的に週 1 回、腫瘍径およびその状態(壊死の混在の比率など)を評価する。安全性を含めた総合的な評価は治療開始後 4 週目と 8 週目に実施する。

- 3) 遺伝子治療実施の際には、治療実施 1 週間前に、遺伝子治療製剤の皮膚テストを実施する。また、1 回目および 6 回目の遺伝子治療製剤注入時に、病巣の生検を行い、病理組織学的観察を施行し、腫瘍細胞の変性やアポトーシス、炎症反応などについて解析する。また、ヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の発現(蛋白量、mRNA)の有無とその程度について可能な限り検討する。
- 4) 入院中は週 1~3 回、尿および末梢血を採取し、各種血液・生化学検査を施行する。腎細胞癌の血中腫瘍マーカーである IAP 値も経時的に測定する。
- 5) 免疫学的検討事項  
免疫学的検討事項を以下に示す。

(1) 摘出組織

- ・ HE、免疫染色(CD3, 4, 8, macrophage, NK, apoptosis など)
- ・ 遺伝子発現(RT-PCR: IFN- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6)

(2) 血液(投与日は、投与の前後で)

- ・ PCR(plasmid DNA), RT-PCR
- ・ CD4/8
- ・ 抗プラスミド抗体
- ・ EIA(サイトカインアッセイ: IFN- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6)

(3) 尿(投与日は、投与の前後で)

- ・ PCR(plasmid DNA)

この中でも特に、①ヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の腫瘍内での発現の有無、②ヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の導入により腫瘍細胞のアポトーシスが誘導されているか否か、③腫瘍局所へ NK 細胞や細胞障害性 T リンパ球が誘導されるか否かに重点を置いて検討する。

5. 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

本臨床研究は第 I / II 相試験として実施し、エンドポイントを以下のように定める。

① 安全性の評価と実行計画

理学的所見、血液、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。Grade 4 の有害反応がみられたら、直ちに治療を中止し、適切な処置を施す。Grade 3 の有害反応が出現した際は、主治医は速やかに総括責任者および遺伝子治療審査委員会審査委員長に報告。総括責任者の判断および審査委員長の承認のもとで中止可能とする。審査委員長は個々の grade 3 以上の有害反応の報告を受けた後、独自の判断で、緊急審査委員会を開き、本臨床研究の継続の可否について審議できる。有害反応と本遺伝子治療の因果関係の判定を判定部会に諮問した場合は、判定部会の判定を審査委員会で審議し、最終的な判断を行う。また、安全性の評価は治療開始後 5 週以降も 8 週まで毎週定期的に行う。さらにその後も原則として 4 週毎に評価する。

② 治療効果の評価

	<p>1) primary endpoint  本剤を局注した病巣の大きさの変化に基づき、縮小率にて判定する(病巣別効果)。また、非局注病巣の大きさの変化についても評価し、個体別評価を行う。評価基準は日本泌尿器科学会・日本病理学会・日本医学放射線学会/編の「腎癌取り扱い規約 第3版、第1部 臨床的事項、E. 治療効果判定基準」および米国の National Cancer Institute (NCI) が提示している RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid tumors) に準じて、著効、有効、不変、進行に区分する。遺伝子治療施行部位以外に病変を認める場合には、原則的に治療効果を併記する。可能であれば評価可能病変を治療終了後に生検して組織学的に検索する。</p> <p>2) second endpoint  (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) Performance Status の変化</p> <p>③ 中止判定基準  1) 重篤な副作用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。  (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  なお副作用が発生した場合、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審査を依頼する。</p> <p>2) 治療開始後 4 週目と 8 週目の主治医による評価と 10 週目の判定部会の判定後に審査委員会でも無効と評価され、総括責任者がこれ以上の本臨床研究の継続が、患者の不利益となる可能性が高いと判断した場合には、当該患者に対する本臨床研究を中止する。</p> <p>3) 治療開始時点で十分なインフォームドコンセントが得られていても、治療途中で患者が拒否した場合には、当該患者に対する本臨床研究を中止する。</p> <p>6. 本遺伝子治療臨床研究の責任の所在  本臨床研究に関する最終的な責任は、総括責任者が負うものとする。</p>
備 考	<p>腎細胞癌に対する遺伝子治療の国内外での状況</p> <p>1994 年、米国の Simons らは手術的に摘出した腎細胞癌の腫瘍細胞を体外で培養し、これにサイトカインの一種である顆粒球・マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) の遺伝子をレトロウィルスベクターを用いて導入し、増殖を防ぐために放射線を照射した後、腎細胞癌患者へ移入する最初の腎細胞癌の遺伝子治療を行っている。18 人に対し実施し、1 例で PR (奏効率 6%) を認めたが、13 例は治療開始後 12 ヶ月以内に死亡している。副作用として、掻痒 (4 例)、蕁麻疹 (2 例)、便秘 (1 例)、深部静脈血栓症 (1 例)、</p>

筋肉痛(2例)が報告されているが、重篤なものはない。同様の遺伝子治療は1999年から日本でも4人に対し実施された。しかしこの臨床研究では、PR以上を確認できた症例はなかった。4例とも既に死亡し、治療開始後の生存期間は7ヶ月、45ヶ月、72ヶ月、103ヶ月であった。また、副作用として発熱(38℃未満)(2例)、接種局所の発赤、腫脹、硬結(4例)、が報告されているが、重篤なものはない。その後も腎細胞癌に対しては、米国などにおいて種々のサイトカイン遺伝子を中心に、いくつかの遺伝子治療が試みられている。中でも Galanisらは、インターロイキン2遺伝子を用いた、正電荷リポソーム製剤による進行期悪性腫瘍に対する遺伝子治療の臨床研究を実施して、その結果を2004年に報告している。腎細胞癌の31症例のうち、1例(3%)で著効、2例(7%)で有効、7例(22%)で不変、21例(68%)で進行という結果であった。また、この臨床研究では最大4,000 $\mu$ gという比較的大量のプラスミドDNAを皮下、リンパ節、肝臓、腎臓、副腎、後腹膜、胸壁などに対し週1回、計6回注入している。副作用として、注入部痛(軽度;5例、中等度;3例)、倦怠、筋肉痛、発熱、悪寒などの全身症状(軽度;19例、中等度;4例)、疲労6例(軽度)、嘔気3例(軽度もしくは中等度)、アレルギー反応(中等度;1例)が、報告されているが、重篤な副作用は認められなかった。治療開始後の生存期間は、2-72ヶ月(中央値11ヶ月)で、1年生存率が48%、3年生存率が19%と報告されている。

なお、本遺伝子治療臨床研究は京都府立医科大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に申請され、慎重な審議が行われ、平成20年7月17日、承認されるに至っている。

(注意)

1. 用紙の大きさは、日本工業規格A列4番とすること。
2. この申請書は、正本1通及び副本2通を提出すること。
3. 字は墨・インク等を用い、楷書ではっきり書くこと。
4. 記載欄に記載事項のすべてを記載できない時は、その欄に「別紙( )のとおり」と(ア)と記載し、別紙を添付すること。
5. 備考欄には、「第4その他」に掲げる各種指針への適合状況等、特記すべき事項について記載すること。
6. 大学等にあつては、この申請書の写しを文部科学大臣にも送付すること。

(別紙) 治療および観察項目のスケジュール

リボゾーム製剤の投与		1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目	
項目	投与前 一週以内	第1週 Day1 治療前 月	Day1 治療後 月	Day4 治療前 木	Day4 治療後 木	第2週 Day6 治療前 月	Day6 治療後 月	Day11 治療前 木	Day11 治療後 木	第3週 Day15 治療前 月	Day15 治療後 月	Day18 治療前 木	Day18 治療後 木
同意取得	○												
皮膚テスト	○												
腫瘍径の測定	○	○		○		○		○		○		○	
血液検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
安全性の評価			○		○		○		○		○		○
腫瘍生検 (病理検査、 免疫染色、遺伝子発現)		○										○	
プラスミドDNAのPCR (血液、尿)		○						○					
血中抗プラスミド抗体		○						○					
血中サイトカイン		○						○					
血中CD4/8		○						○					

項目	第4週 Day22 月	Day25 木	第5週 Day29 月	Day32 木	第6週 Day36 月	Day39 木	第7週 Day43 月	Day46 木	第8週 Day50 月	Day53 木	Day56 日
同意取得											
皮膚テスト											
腫瘍径の測定		○		○		○		○		○	
血液検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
安全性の評価	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○	○
腫瘍生検 (病理検査、 免疫染色、遺伝子発現)											
プラスミドDNAのPCR (血液、尿)	○									○	
血中抗プラスミド抗体	○									○	
血中サイトカイン	○									○	
血中CD4/8	○									○	

(上記のように1コースを8週とする)  
(入院は原則として4週間必要)

項目	1年目(第9~52週)	2~5年目
	第4n週 (n=3~13) (1回/4週)	各月第1週 (1回/月)
腫瘍径の測定	○	○
血液検査	○	○
尿検査	○	○
安全性の評価	○	○

## 別紙（１）

### 京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会審議結果報告書

京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会(以下「審査委員会」という。)は、京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学三木恒治教授から申請の「ヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」について、審査委員会で慎重に審議した結果、本申請は「遺伝子治療臨床研究に関する指針」に記載されている基準に適合しているとの結論に達したので報告します。

#### 審査委員会が研究計画の実施を適当と認める理由

##### 1 対象疾患等

本研究計画の対象疾患は、進行期腎細胞癌である。他臓器転移を有する腎細胞癌患者の5年生存率は15%程度であり、生存期間中央値は約6～12ヶ月ときわめて短い。

進行期腎細胞癌の治療方法としては、α型インターフェロンに代表される遺伝子組換え蛋白を用いた免疫療法以外、現在のところ有効な治療法は確立されていない。しかも、その奏効率は15%程度と低く、長期予後の改善はほとんどもたらされていないのが現状である。また、全身投与が基本となっており、発熱、全身倦怠感、肝機能障害、鬱状態などの副作用も比較的高頻度に認められている。

腎細胞癌に対して本邦では、α型およびγ型インターフェロンは保険適用となっているが、β型インターフェロンは適用となっていない。理由としては1982年以降α型インターフェロンの腎細胞癌に対する有効性が先に報告され、ほぼ同様の生物学的活性を持つと考えられたβ型インターフェロンの検討が十分になされなかったこと。さらに、α型インターフェロンが筋肉内投与にて有効な血中濃度を維持するのに対して、β型インターフェロンは組織親和性が高く静脈内投与によってしか、同様の血中濃度を維持できない点などが影響していると考えられる。本邦では、β型インターフェロンは固形癌としては脳腫瘍に対する髄腔内投与と悪性黒色腫に対する局所注入にのみ保険適用がある。このことは、前述の組織親和性が高く血中への拡散が少ないというβ型インターフェロンの特性によるところが大きい。本研究計画は、進行期腎細胞癌病巣に対する局所注入での遺伝子治療を実施するわけであるから、β型インターフェロン遺伝子を治療遺伝子として選択することは妥当と考えられる。

また、これまでの基礎研究により、腎細胞癌に対するヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤投与が、ヒトβ型インターフェロン蛋白投与に比べても、はるかに高い細胞障害活性を有し、ヒトβ型インターフェロン蛋白処理では誘導できないアポトーシスがヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤処理によって効率よく誘導できることを見いだしており、本研究計画によって、



予後がきわめて不良な進行期腎細胞癌に対する新たな治療法が期待される。

## 2 有効性及び安全性

本研究計画に用いるヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤は、名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて作製し、その凍結乾燥剤をドライアイス入り発泡スチロール箱に入れて京都府立医科大学附属病院へ運搬し、専用の4℃冷蔵庫に保管、管理し、生物活性を確認後に臨床研究に供される。

本製剤は、非ウィルス性遺伝子導入ベクターであり、増殖性ウィルス出現の可能性はない。遺伝子は染色体には組み込まれず、エピゾーマル（核内染色体外）に発現し、細胞の分裂回数に伴って細胞当たりのプラスミド数は減少するので、遺伝子の発現は一過性である。遺伝子発現は導入後4日ないし6日でピークに達し、その後減弱して、2～3週間後には検出限界以下となる。変異原性試験は陰性で、がん原性、免疫原性も認められていない。また、その安全性は、動物実験などにおいて十分に検討され、確認されている。

また、2000年4月から、このヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いたグリオーマ患者に対する臨床研究が開始されているが、特に問題となる有害事象は認められていない。

有効性については、1で述べたとおり、これまでの基礎研究により、腎細胞癌に対するヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤投与が、ヒトβ型インターフェロン蛋白投与に比べても、はるかに高い細胞障害活性を有し、ヒトβ型インターフェロン蛋白処理では誘導できないアポトーシスがヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤処理によって効率よく誘導できることを見いだしており、有効性も認められる。

## 3 品質等の確認

本研究計画に用いるヒトβ型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤は、名古屋大学医学部附属病院脳神経外科において、2000年4月から旧厚生省、旧文部省から実施して差し支えないとの意見を得てグリオーマの遺伝子治療に用いられているものである。

また、輸送および使用方法は、同じく2003年7月から厚生労働省、文部科学省の了承を得て、信州大学医学部附属病院皮膚科において悪性黒色腫に対して実施のものと同方式であることを確認した。

## 4 適切な説明に基づく被験者の同意の確保

セカンドオピニオン（他の医療機関等の意見）に関する記載もあり、適切な説明に基づく被験者の同意（インフォームド・コンセント）が確実に確保されると判断した。

平成20年7月17日

京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会 伏木 信次

資料9

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： 年 月 日

患者氏名：

説明医師名：