

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 終 了 報 告 書

平成30年 9月 19日

厚生労働大臣 殿

研 究 機 関	所 在 地	東京都江東区有明3丁目8番31号 (郵便番号) 135-8550
	名 称	公益財団法人がん研究会有明病院総合腫瘍科および 公益財団法人がん研究会がん化学療法センター 遺伝子治療研究室、臨床部 (電話番号) 03-3520-0111 (FAX番号) 03-3570-0484
	代 表 者 役職名・氏名	公益財団法人がん研究会有明病院 病院長・佐野 武  (職印)

下記の遺伝子治療等臨床研究について、別添の総括報告書を提出します。

記

遺 伝 子 治 療 等 臨 床 研 究 の 課 題 名	研 究 責 任 者 の 所 属 ・ 職 ・ 氏 名
乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための 耐性遺伝子治療の臨床研究	公益財団法人がん研究会有明病院総合腫瘍 科・部長 兼公益財団法人がん研究会がん 化学療法センター・臨床部・担当部長・高 橋俊二

平成10年 7月14日

研 究 の 名 称	乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究
研 究 実 施 期 間	平成12年2月24日から平成30年7月31日まで
多施設共同臨床研究	非該当

[illegible]

3. 総括責任者及び総括責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

総括責任者	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号)

4. 総括責任者以外の研究責任者及び当該研究責任者が所属する研究機関に関する情報（多施設共同臨床研究に該当する場合は、以下の項目を記載すること。）

研究責任者①	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関①	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号)

研究責任者②	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関②	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	
	連 絡 先	(電話番号)

研究責任者③	所属部局の所在地	(郵便番号)
	所属機関・部局・職	
	氏 名	
研究機関	所 在 地	(郵便番号)
	名 称	

関 ③	連 絡 先	(電話番号)
--------	-------	---------

5. 倫理審査委員会の見解

倫 理 審 査 委 員 会 の 意 見	第1回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画の審査 日時：平成9年9月5日
	第2回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画の審査 日時：平成9年10月13日
	第3回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画の審査 日時：平成9年11月11日
	第4回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画の審査 日時：平成9年12月8日
	第5回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画の審査 日時：平成10年1月19日
	第6回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施の承認 日時：平成10年2月24日
	文部大臣及び厚生大臣に遺伝子治療臨床研究実施計画の申請 日時：平成10年7月14日
	遺伝子治療臨床研究（がん）審査合同作業部会「財団法人癌研究会附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画書に対する意見」への回答書の検討 日時：平成10年12月21日
	遺伝子治療臨床研究（がん）審査合同作業部会「財団法人癌研究会附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画書に対する意見」への再回答書の審議 日時：平成11年9月8日
	遺伝子治療臨床研究（がん）審査合同作業部会「財団法人癌研究会附属病院の遺伝子治療臨床研究実施計画書に対する意見」への再々回答書の審議 日時：平成11年11月16日
	厚生大臣、文部大臣より遺伝子治療臨床研究を実施して差し支えない旨の意見書を受領 日時：平成12年2月24日
	第7回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、フランスX-SCID 遺伝子治療の有害事象報告 日時：平成14年11月27日
	書面報告、3例目以降の遺伝子導入細胞の移植の一時差し控え 日時：平成15年1月16日

	第8回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画書・患者説明文書改訂の審議及び遺伝子治療再開の審議 日時：平成15年9月18日				
	第9回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画書・患者説明文書改訂の審議及び遺伝子治療再開の承認 日時：平成16年2月5日				
	第10回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、実施計画書・患者説明文書改訂の承認 日時：平成16年4月15日				
	第11回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、第3症例の死亡報告の承認 日時：平成18年12月20日				
	第12回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、第2症例の死亡報告の承認 日時：平成22年1月6日				
	第13回癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会、遺伝子治療終了報告書の承認 日時：平成30年 9 月 5 日				
	<table border="1"> <tr> <td>倫理審査委員会の長の職名</td><td>氏 名</td></tr> <tr> <td>公益財団法人がん研究会 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会・委員長 公益財団法人がん研究会がん研究所・発がん研究部・部長</td><td>中村卓郎 (印) </td></tr> </table>	倫理審査委員会の長の職名	氏 名	公益財団法人がん研究会 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会・委員長 公益財団法人がん研究会がん研究所・発がん研究部・部長	中村卓郎 (印) 
倫理審査委員会の長の職名	氏 名				
公益財団法人がん研究会 ヒトゲノム・遺伝子解析研究倫理審査委員会・委員長 公益財団法人がん研究会がん研究所・発がん研究部・部長	中村卓郎 (印) 				

研 究 の 区 分	○治療に係る臨床研究	予防に係る臨床研究
研究の目的及び意義	本研究の目的は、癌化学療法の有効性と安全性をより高めるための耐性遺伝子治療法の研究開発を行うことである。本研究では、進行乳癌患者より採取した造血幹細胞に、HaMDR レトロウイルスを用いてヒト多剤耐性遺伝子 MDR1 を導入し、この MDR1 遺伝子導入造血幹細胞を患者に戻すことにより患者の骨髓細胞を抗癌剤耐性とすることを目指す。一般に大量化学療法施行後の再生骨髓は脆弱なことが多く、その後に抗癌剤による地固め療法等を施行することは困難なことが多い。本研究がなされれば、抗癌剤による骨髓抑制の軽減、治療効果の向上及び副作用軽減に伴う QOL の向上が期待される。 本研究の具体的な目的は以下の3項目である (1) 大量化学療法を受けた乳癌症例への自己末梢血幹細胞移植時に CD34 陽性細胞へ導入されたヒト多剤耐性遺伝子 (MDR1) の患者の骨髓細胞、末梢白血球における発現を評価する。 (2) 上記 MDR1 遺伝子導入に伴う安全性を評価する。 (3) 自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法施行後の乳癌症例に対する化学療法の有効性と安全性を評価する。	
	対象疾患：再発進行乳癌	

対 象 疾 患 及 び そ の 選 定 理 由	選定理由：本研究の立案及び開始当初、癌研究会附属病院において進行乳癌症例を対象に自己末梢血幹細胞移植併用大量化学療法が行われていたこと、及び進行乳癌に対してはdoxorubicin、paclitaxel、docetaxel等のMDR1遺伝子導入により耐性となる抗癌剤が使用可能であること。
実 施 方 法	1. 患者の選択 候補患者およびその患者の家族または後見人等に対して、総括責任者および担当医師が本研究に関する十分な説明を行い、インフォームド・コンセントを得た。本研究の選択基準、除外基準を確認した後、患者選定について癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会に報告を行った。同委員会の承認の得られた患者を本研究の対象症例として登録した。 2. 患者数と実施期間 本研究は、平成12年2月24日に開始された。本研究は、2段階に分けて実施する計画であった。本研究の第1段階では、研究の安全性の確認を主たる目的とし、3症例に対してMDR1遺伝子導入細胞の移植を行う。これらの患者に対しては、前の患者の骨髄再構築が確認されてから次の患者への移植を行う。このため、遺伝子導入細胞の移植は4週間以上間隔を空けて行う。これらの患者に対して、引き続きdocetaxelを中心とする化学療法を施行する。3症例目の患者にMDR1遺伝子導入細胞の移植を行ってから6カ月間を第1段階における安全性の観察期間とする。この時点までにMDR1遺伝子導入細胞の移植に起因する急性毒性あるいは有害な副作用がおきないことを確認する。この第1段階での安全性の確認の後、厚生労働省に報告を行う。本研究はその後第2段階の10症例を対象とした臨床研究へと移行する予定であった。しかし実際には第2段階の臨床研究は行わず、本研究は第1段階の3症例のみで終了することとした。 3. 臨床研究計画 本研究では、ヒト多剤耐性遺伝子MDR1の野生型・完全長cDNAを用いる。このMDR1 cDNAは、Harvey murine sarcoma virus (HaMSV) 由来のレトロウイルスベクターHaMDRにより患者の細胞に導入される。ヒトMDR1 cDNAは標的細胞内に導入された後mRNAに転写され、ヒト多剤耐性遺伝子産物P-糖タンパク質が翻訳される。P-糖タンパク質の発現した細胞は、doxorubicin、vincristine、vinblastine、vinorelbine、paclitaxel、docetaxelなど種々の抗癌剤に耐性を示すことが明らかとなっている。 本研究は、寛解導入化学療法により完全寛解あるいは部分寛解が得られた再発あるいは進行乳癌症例を対象とする。インフォームド・コンセント取得の後、本研究を開始する。まず患者に対して大量cyclophosphamide投与とG-CSF投与を施行した後、患者の末梢血単核細胞の採取を2ないし3コース施行し、このうち約1/3量相当分よりCD34陽性細胞を分離する。これをサイトカイン存在下培養し、引き続いてHaMDRレトロウイルス産生細胞の培養上清を加えて培養することによりMDR1遺伝子導入を行う。遺伝子導入したCD34陽性細胞は移植時まで液体窒素タンク内に凍結保存する。遺伝子導入を行わない残りの約2/3量相当分の末梢血単核細胞はそのまま無処理にて凍結保存する。バックアップ用として骨髄単核細胞を採取し、凍結保存する。遺伝子導入した細胞の一部を用いて、遺伝子導入と発現の検討およびRCR（増殖性レトロウイルス）の検索等の安全性検査を行う。自己造血幹細胞移植の用意が整ったところで大量化学療法のコンディショニングを開始し、引き続いて大量化学療法を施行する。その後、凍結保存しておいたMDR1遺伝子導

	入 CD34 陽性細胞を未処理の末梢血単核細胞とともに移植する。骨髓が再構築されて末梢血所見が正常化し、患者の一般状態が完全に回復した後、docetaxel 等の抗癌剤の投与を開始する。docetaxel を投与する場合の投与量は、通常の 50% 量から開始し、順次増量して 75% 量、100% 量とする。なお、過去の化学療法における投与経験、副作用等を考慮して、docetaxel に代えて paclitaxel を用いることがある。投与計画は docetaxel に準ずる。また docetaxel、paclitaxel の投与が無効と考えられる場合あるいは著しい副作用を認めた場合には、その他の抗癌剤による治療を考慮する。この抗癌剤投与後の末梢血所見、骨髓所見を中心に安全性と有効性を経時的に検討する。 本研究の第 1 段階では、3 症例に対して MDR1 遺伝子導入細胞の移植を行う。3 症例目の患者に MDR1 遺伝子導入細胞の移植を行ってから 6 カ月間を第 1 段階における安全性の観察期間とする。この時点までに MDR1 遺伝子導入細胞の移植に起因する急性毒性あるいは有害な副作用がおきないことを確認する。この第 1 段階での安全性の確認の後、本研究は第 2 段階の 10 症例を対象とした臨床研究へと移行する予定であった。しかし実際には、本研究は第 1 段階の 3 症例のみで終了することとなった。 4. 本臨床研究終了後のフォローアップ 本研究は、新規に症例を追加する予定がないため、本終了報告書をもって終了とする。しかし第 1 症例は、現在もがん研究会有明病院において治療および観察を継続している。第 1 症例の末梢白血球には、移植後 17 年を経過した平成 30 年においても、MDR1 遺伝子導入細胞がごくわずかであるが検出されている。このため、第 1 症例における末梢血液所見、末梢血中の MDR1 遺伝子導入細胞の観察を行うことを目的として、「乳癌に対する癌化学療法の有効性と安全性を高めるための耐性遺伝子治療の臨床研究：経過観察研究」の計画書をがん研究会有明病院長に提出し（がん研究会有明病院 IRB 受付番号 2014-1037）、平成 26 年 10 月 6 日に最初の承認を、平成 30 年 6 月 15 日に研究期間の延長を目的とした変更申請の承認を得た。今後はこの経過観察研究の計画書に従って第 1 症例のフォローアップを継続する。
研究結果の概要 及び考察	1. 3 症例の臨床経過 第 1 症例 第 1 症例は、過去に右乳癌と診断され右乳房切除術を受けたが、その後両肺に多発腫瘍を認め、気管支鏡下生検にて乳癌の肺転移と診断された。癌研究会附属病院において 5-fluorouracil、doxorubicin、cyclophosphamide による標準量の寛解導入化学療法を 7 コース施行したところ、腫瘍マーカーが正常化し、肺 CT 検査にて両肺転移巣は 80% 縮小し、PR と評価された。この患者より平成 12 年 10 月にインフォームド・コンセントを得た。本実施計画書に基づく適合性の検査を行い、財団法人癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の了承を得て本研究の対象症例として登録された。平成 12 年 11 月と平成 13 年 2 月に末梢血幹細胞採取＋遺伝子導入を行った。 平成 12 年 11 月に行った第 1 コース目の末梢血幹細胞採取では、7.2×10^7 個の CD34 陽性細胞が精製され、この細胞に MDR1 遺伝子を導入した。遺伝子導入後の CD34 陽性細胞の 14% に P-糖タンパク質の高発現が認められた。第 2 コース目の末梢血幹細胞採取では、精製された 4.3×10^7 個の CD34 陽性細胞に遺伝子導入を行い、15% の細胞に P-糖タンパク質の高発現が見られた。これら遺伝子導入細胞に対する安全性試験では、乳癌細胞の混入は認められ

ず、株式会社エスアールエルによる無菌試験、マイコプラズマ試験、増殖性レトロウイルス試験などでも問題は認められなかった。この遺伝子導入細胞を未処理の末梢血幹細胞と共に大量化学療法施行後の患者に移植した。

平成 13 年 4 月に、MDR1 遺伝子導入細胞と未処理の末梢血幹細胞を患者に移植した。患者に移植された有核細胞数は 5.2×10^{10} 個で、このうち CD34 陽性細胞は 3.3×10^8 個であった。患者に移植された CD34 陽性細胞数は本プロトコルの基準 (CD34 陽性細胞 2×10^6 個/kg 以上) を上回っていた。患者に移植された P-糖タンパク質陽性細胞は 2.2×10^7 個で、これは患者に戻した CD34 陽性細胞の 7% に相当した。次いで、同年 6 月より docetaxel 治療を開始した。この患者では大量化学療法後にもまだ残存病変が認められたため、docetaxel 治療は 10 コース行われた。5 コース目の docetaxel 投与の後の CT で腫瘍病変が完全に喪失し、CR と判定された。この症例は、約 5 年半 CR を維持していたが、平成 19 年 3 月に再発した。その後、内分泌療法による治療を継続していたが、平成 29 年 10 月より eribulin による化学療法を開始している。現在の PS は 0 である。

第 1 症例の末梢血白血球の DNA-PCR では、docetaxel 投与により MDR1 遺伝子導入細胞の増幅が見られ、MDR1 遺伝子導入細胞が患者体内で抗癌剤耐性細胞として機能していることが示唆された。移植後 17 年を経過した平成 30 年 4 月の時点でも、第 1 症例の末梢血中には、MDR1 遺伝子導入細胞がごくわずかであるが検出されている。臨床検査において、末梢血中の blast cell の割合の増大は確認されなかった。

第 2 症例

第 2 症例は、過去に原発性乳癌のため乳房切除術を施行し、引き続いて UFT による術後化学療法を施行したが、その後鎖上リンパ節、内胸リンパ節の腫脹を認め、生検により乳癌再発と診断された。癌研究会附属病院において 5-fluorouracil、doxorubicin、cyclophosphamide による寛解導入化学療法を行い、6 コース終了時に CT により鎖上リンパ節は CR、内胸リンパ節は PR と判定された。その後、docetaxel、tamoxifen、放射線治療を順次施行し、本研究の登録時には、鎖上リンパ節 CR、内胸リンパ節 near CR と評価された。この患者より平成 12 年 6 月にインフォームド・コンセントを得た。本実施計画書に基づく適合性の検査を行い、財団法人癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の手承を得て本研究の対象症例として登録された。第 2 症例の末梢血幹細胞採取＋遺伝子導入は、平成 12 年 8 月、平成 13 年 1 月、平成 13 年 4 月に行った。

第 1 コース目の末梢血幹細胞採取では、 1.4×10^7 個の CD34 陽性細胞が精製され、この細胞に MDR1 遺伝子導入を行った。遺伝子導入後の CD34 陽性細胞の 17% に P-糖タンパク質の高発現が認められた。第 2 コース目の末梢血幹細胞採取では、 2.2×10^7 個の CD34 陽性細胞に遺伝子導入を行い、13% の細胞に P-糖タンパク質の高発現が見られた。第 3 コース目の末梢血幹細胞採取では、 2.1×10^7 個の CD34 陽性細胞に遺伝子導入を行い、14% の細胞に P-糖タンパク質の高発現が見られた。遺伝子導入細胞の安全性に問題は認められなかった。その後骨髓単核細胞を採取してバックアップとして凍結保存した。この遺伝子導入細胞を未処理の末梢血幹細胞と共に大量化学療法施行後の患者に移植した。

平成 13 年 10 月に、MDR1 遺伝子導入細胞と未処理の末梢血幹細胞を患者に移植した。患者に移植された有核細胞数は 9×10^{10} 個で、このうち CD34 陽性細胞は 1.5×10^8 個であった。移植された 1.5×10^8 個の CD34 陽性細胞のうち、未処理で患者に戻された細胞が 1.1×10^8 個、遺伝子導入のために培養された細胞が 5×10^7 個であった。患者に移植された CD34 陽性細胞数は本プロ

トコールの基準（CD34 陽性細胞 2×10^6 個/kg 以上）を上回っていた。患者に移植された P-糖タンパク質陽性細胞は 5.4×10^6 個で、これは患者に戻した CD34 陽性細胞の 3.6% に相当した。

第 2 症例に対し、平成 14 年 5 月より平成 14 年 8 月までに 5 コースの docetaxel 治療を行った。第 2 症例は平成 13 年 11 月より約 3 年半 CR の状態にあったが、平成 17 年 6 月に再発し、平成 21 年 6 月に脳髄膜転移のため死亡された。

第 2 症例の末梢血白血球の DNA-PCR では、docetaxel 治療の後、それまで検出限界以下であった患者末梢血中の MDR1 遺伝子陽性細胞が低レベルながら検出されるようになり、第 2 症例においても MDR1 遺伝子導入細胞が患者体内で抗癌剤耐性細胞として機能していることが示唆された。臨床検査において、末梢血中の blast cell の割合の増大は確認されなかった。

第 3 症例

第 3 症例は、原発性乳癌のため乳房切除術を施行され、LHRH agonist、tamoxifen、5'-FUdR による術後療法を行ったが、その後鎖上リンパ節腫脹、肝臓の多発性転移を認め、リンパ節細胞診により乳癌再発と診断された。癌研究会附属病院において doxorubicin、docetaxel による寛解導入化学療法を行い、24 コース終了時に CT、エコーにより鎖上リンパ節、肝臓ともに near CR と判定された。この患者より平成 14 年 10 月にインフォームド・コンセントを得た。本実施計画書に基づく適合性の検査を行い、財団法人癌研究会遺伝子治療臨床研究に関する審査委員会の了承を得て本研究の対象症例として登録された。平成 14 年 11 月と平成 15 年 1 月に末梢血幹細胞採取＋遺伝子導入を行った。

第 1 コース目の末梢血幹細胞採取では、 1.24×10^8 個の CD34 陽性細胞が精製され、この細胞に MDR1 遺伝子導入を行った。MDR1 遺伝子導入後の CD34 陽性細胞 8% に P-糖タンパク質の高発現が認められた。第 2 コース目の末梢血幹細胞採取では、 1.0×10^7 個の CD34 陽性細胞が精製され、MDR1 遺伝子導入後の CD34 陽性細胞の 10% に P-糖タンパク質の高発現が認められた。遺伝子導入細胞の安全性に問題は認められなかった。

第 3 症例は平成 15 年初めに大量化学療法＋MDR1 遺伝子導入細胞の移植を行う予定であったが、平成 14 年にフランスの X-SCID 遺伝子治療において白血病の発生が報告されたためにいったん中断した。その後、実施計画書・同意説明文書の改訂を行い、平成 16 年 6 月より再開となった。平成 16 年 8 月に遺伝子導入細胞の移植が行われた。

患者に移植された有核細胞数は 5.6×10^{10} 個で、このうち CD34 陽性細胞は 4.7×10^8 個であった。移植された 4.7×10^8 個の CD34 陽性細胞のうち、未処理で患者に戻された細胞が 3×10^8 個、遺伝子導入のために培養された細胞が 1.7×10^8 個であった。患者に移植された CD34 陽性細胞数は本プロトコールの基準（CD34 陽性細胞 2×10^6 個/kg 以上）を上回っていた。患者に移植された P-糖タンパク質陽性細胞は 1.3×10^7 個で、これは患者に戻した CD34 陽性細胞の 2.8% に相当した。

第 3 症例ではそれまでの化学療法により腫瘍が docetaxel、paclitaxel、doxorubicin に抵抗性になっていると判断されたため、平成 16 年 9 月に大量化学療法により good PR に入った後、vinorelbine、capecitabine、mitomycin C＋methotrexate、TS-1 による化学療法を順次行った。しかしながら、平成 17 年 3 月に再発し、平成 18 年 12 月に死亡された。臨床所見、剖検所見などから死因は原病の悪化であり、白血病の発症などの有害事象は認められなかった。

第3症例の末梢血白血球のDNA-PCRでは、移植後1年以上を経過した後、mitomycin Cとmethotrexateの併用による治療の後に、MDR1遺伝子導入細胞の増幅が見られ、MDR1遺伝子導入細胞が患者体内で抗癌剤耐性細胞として機能していることが示唆された。臨床検査において、末梢血中のblast cellの割合の増大は確認されなかった。

2. 有害事象

本研究では第1症例が平成13年4月に、第2症例が平成13年10月にMDR1遺伝子導入細胞の移植を受けた。その後、平成14年後半にフランスのX-SCID遺伝子治療においてレトロウイルスの組み込みによるT細胞性白血病の発症が2症例報告された。そのため、癌研では平成15年1月に本研究における新規患者登録を一旦中止し、MDR1遺伝子治療も含めX-SCID以外の遺伝子治療において同様の有害事象が発生していないことを確認した。その後、実施計画書・同意説明文書の改訂を行い、平成16年6月より本研究における新規患者登録を再開した。第3症例が平成16年8月にMDR1遺伝子導入細胞の移植を受けた。その後さらに、平成18年にフランスにおいて3症例目のT細胞性白血病の発症が報告されたため、遺伝子導入血液細胞の異常増殖等について詳細に検討した。

a) MDR1遺伝子導入細胞の異常増殖について

3症例において患者末梢血に最大数%のP-糖タンパク質陽性細胞が認められたが、末梢血液所見、末梢血白血球のFACS検査、末梢血白血球のDNA-PCR検査のいずれにおいてもその異常増殖は認められなかった。また、エスアールエルにおいて定期的に行っているDNA-PCR検査においては、現在でも第1症例の末梢血白血球中にMDR1遺伝子導入細胞が検出されているが、そのレベルは低く、MDR1遺伝子導入細胞の異常増殖の兆候はみられていないと考えられる。

b) MDR1遺伝子導入細胞における挿入部位の検討

フランスのX-SCID遺伝子治療では、レトロウイルスがLMO-2遺伝子に挿入されこの遺伝子を活性化したために白血病化が生じたと考えられ、本研究においても、末梢血白血球における遺伝子挿入部位のLAM-PCRを用いた詳細な解析を行った。

第1症例では、LAM-PCRにより38個のクローン(L-1～L-38)が分離された。そのうち患者体内で長期間生存し、かつRTCGD (retrovirus-tagged cancer gene database)にあるマウス白血病のレトロウイルス挿入部位と一致したRTCGD-hitクローンは、HaMDR1レトロウイルスがMDS1/EVI1遺伝子に挿入されたL-34のみであった。L-34は、docetaxel治療によって患者体内で増幅され、2年以上患者体内に存在したが、移植後3年を経て検出できなくなった。EVI1遺伝子はヒト白血病の原因遺伝子としてもよく知られているが、L-34の異常増殖は認められていない。また、このL-34以外にも第1症例で長期生存したクローンは7個同定されたが、いずれのクローンもdocetaxel治療によって患者体内で増幅されたものであり、L-34と同様に移植後3年を経て消失した。患者の末梢血白血球のDNA-PCR検査においても、MDR1遺伝子導入細胞の異常増殖を示唆する所見は観察されなかった。

第2症例では、移植後数ヶ月で末梢白血球中のMDR1遺伝子陽性細胞がほとんど検出されなくなった。患者へのdocetaxel治療後にMDR1遺伝子導入細胞が検出されたが、ごくわずかであった。LAM-PCRでも遺伝子組み込み部位がクローニングされなかった。

第3症例では、移植後100日程度でMDR1遺伝子導入細胞がほぼ消失した。移植後1年以上を経過してから、mitomycin Cとmethotrexateの併用による治療中に、MDR1遺伝子導入細胞の増幅が見られた。第3症例では、LAM-PCRにより31個のクローン（N-1～N-31）が分離された。このうち患者体内で長期間生存したクローンは8個あった。この中には、MDS1/EVI1、PRDM16の近傍にHaMDRが挿入されたクローンがみられた。

いずれの患者においても、血液検査において、blast cellの異常増殖は確認されなかった。患者の臨床経過の詳細および遺伝子解析の詳細については別紙に示した。

c) その他の有害事象の検討

大量化学療法+末梢血幹細胞移植および耐性遺伝子治療に基づく化学療法、さらにその後の経過観察において、それぞれの治療に一般的に伴う有害事象（大量化学療法における汎血球減少・嘔気・発熱、化学療法に伴う白血球減少）、倦怠感等の他には問題になる有害事象は認められなかった。

3. 治療効果の検討

MDR1遺伝子導入細胞の移植後のdocetaxel治療における骨髄保護作用については、 2.2×10^7 個のP-糖タンパク質陽性細胞が移植された第1症例と 5.4×10^6 個のP-糖タンパク質陽性細胞が移植された第2症例の比較により、より多くのP-糖タンパク質陽性細胞（MDR1遺伝子導入細胞）の移植を受けた症例の方がdocetaxel治療による好中球減少が少ないという所見が得られた。

第1症例は、平成13年10月より約5年半CRを維持していたが、平成19年3月に再発し、治療を継続している。平成30年現在のPSは0である。第2症例は平成13年11月より約3年半CRの状態にあったが、平成17年6月に再発し、平成21年6月に脳髄膜転移のため死亡した。第3症例は大量化学療法にてgood PRに入ったが、その後の化学療法中平成17年3月に再発し、平成18年12月に肺胸膜転移のため死亡した。

4. 考察

本研究の3症例において、MDR1遺伝子導入細胞の異常増殖等の新たな有害事象は認められず、また2症例では長期にCRを保つことができた。このことから、本研究は他に有効といえる治療法が確立していない進行再発乳癌の新しい治療法の開発のための第1相・第2相研究として有意義であると考えられた。また本研究は日本で初めての造血幹細胞を対象としたレトロウイルス遺伝子治療の臨床研究である。本研究において導入遺伝子産物の活性発現が示唆されたこと、および遺伝子導入細胞の患者体内での長期生存が示されたことは、本研究の成果と考えている。

本研究の臨床経過については2007年のCancer Science誌に、第1症例の遺伝子挿入部位の解析については2007年のHuman Gene Therapy誌に、第3症例の遺伝子挿入部位の解析については2010年のJournal of Gene Medicine誌に報告した。

今 後 の 研 究 計 画	第1症例については、今後もフォローアップを継続する。その結果については、今後解析して報告する予定である。
研究成果の公表状況	1. Sugimoto, Y, Takahashi S, Nakane M, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Nagamine T, Minowa S, Shibata H, Ito Y, Hatake H, Tsuruo T, Horikoshi N, Aiba K. A clinical study of <i>MDR1</i> gene therapy against breast cancer. 第7回日本遺伝子治療学会総会. 東京 (2001年7月) 2. 杉本芳一, 高橋俊二, 塚原里美, 箕輪さゆり, 柴田はるみ, 伊藤良則, 畠清彦, 鶴尾隆, 堀越昇, 相羽恵介. 乳癌に対する<i>MDR1</i>遺伝子治療の臨床研究. 第60回日本癌学会学術総会. 横浜 (2001年9月) 3. Sugimoto Y, Takahashi S, Nakane M., Mitsuhashi J, Tsukahara S, Nagamine T, Minowa S, Shibata H, Ito Y, Hatake H, Tsuruo T, Horikoshi N, Aiba K. A clinical study of <i>MDR1</i> gene therapy. Proceedings of the 93rd Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 43:752-753, (2002) 4. Sugimoto Y, Takahashi S, Nakane M, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Nagamine T, Minowa S, Shibata H, Ito Y, Hatake K, Tsuruo T, Horikoshi N, Aiba K. Evidence for the expansion of the <i>MDR1</i>-transduced cells in vivo in a clinical study of <i>MDR1</i> gene therapy against breast cancer. 第8回日本遺伝子治療学会総会. 東京 (2002年7月) 5. Sugimoto Y, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Minowa S, Nagamine T, Shibata H, Ito Y, Tsuruo T, Hatake K, Takahashi S. Possible myeloprotective effect of the <i>MDR1</i> gene therapy in the post-transplantation chemotherapy against breast cancer. 第9回日本遺伝子治療学会総会. 東京 (2003年7月) 6. 杉本芳一. <i>MDR1</i>遺伝子治療の臨床研究. 第30回アルカロイド研究会. 東京 (2004年6月) 7. 杉本芳一. 細胞医療の現状と将来. 第20回日本DDS学会. 東京 (2004年7月) 8. Sugimoto Y, Mitsuhashi J, Suzuki S, Tsukahara S, Minowa S, Nagamine T, Shibata H, Ito Y, Tsuruo T, Hatake H, Takahashi S. Analysis of retroviral vector integration into the genome of long-term repopulating cells of the <i>MDR1</i> gene therapy patient. 第10回日本遺伝子治療学会, 東京 (2004年8月) 9. 高橋俊二, 伊藤良則, 相羽恵介, 畠清彦, 鶴尾隆, 杉本芳一. 乳癌に対する耐性遺伝子治療の臨床研究. 第63回日本癌学会学術総会. 福岡 (2004年9月) 10. 鈴木理恵子, 塚原里美, 箕輪さゆり, 柴田はるみ, 伊藤良則, 鶴尾隆, 畠清彦, 高橋俊二, 杉本芳一: <i>MDR1</i>遺伝子治療におけるレトロウイルス組み込み部位の解析. 第63回日本癌学会学術総会. 福岡 (2004年9月) 11. Sugimoto Y, Mitsuhashi J, Suzuki R, Tsukahara S, Minowa S, Shibata J, Ito Y, Tsuruo T, Hatake K, Takahashi S. A clinical study of <i>MDR1</i> gene therapy: oligoclonal expansion of the <i>MDR1</i>-transduced cells in vivo by docetaxel. 第

	11回日本遺伝子治療学会総会。東京（2005年7月） 12. 杉本芳一，塚原里美，伊藤良則，鶴尾隆，畠清彦，高橋俊二。MDR1遺伝子治療を受けた乳癌患者の末梢血で長期に維持されていた遺伝子導入細胞クローンの解析。第64回日本癌学会学術総会。札幌（2005年9月） 13. Takahashi S, Ito Y, Hatake K, Sugimoto Y. Gene therapy for breast cancer –Review of clinical gene therapy trials for breast cancer and <i>MDR1</i> gene therapy trial in Cancer Institute Hospital. Breast Cancer, 13: 8-15 (2006) 14. Takahashi S, Aiba K, Ito Y, Hatake K, Nakane M, Kobayashi T, Minowa S, Shibata H, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Ishikawa E, Suzuki R, Tsuruo T, Sugimoto Y. A pilot study of <i>MDR1</i> gene transfer into hematopoietic stem cells and chemoprotection in metastatic breast cancer patients. Cancer Sci, 98: 1609-1616 (2007) 15. Sugimoto Y, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Suzuki R, Oh-hara Y, Nishi S, Hosoyama H, Minowa S, Shibata H, Ito Y, Hatake K, Aiba K, Takahashi S. A 5-year follow up of the patients who have undergone an <i>MDR1</i> gene therapy against metastatic breast cancer. 第13回日本遺伝子治療学会総会。名古屋（2007年6月） 16. Mitsuhashi J, Tsukahara S, Suzuki R, Oh-Hara Y, Nishi S, Hosoyama H, Katayama K, Noguchi K, Minowa S, Shibata H, Ito Y, Hatake K, Aiba K, Takahashi S, Sugimoto Y. Retroviral Integration Site Analysis and the Fate of Transduced Clones in an <i>MDR1</i> Gene Therapy Protocol Targeting Metastatic Breast Cancer. Hum Gene Ther, 18: 895-906 (2007) 17. Junko Mitsuhashi, Satomi Tsukahara, Kohji Noguchi, Yoshinori Ito, Kiyohiko Hatake, Keisuke Aiba, and Shunji Takahashi, Yoshikazu Sugimoto. A 5-year follow up of the patients who have undergone <i>MDR1</i> gene therapy against metastatic breast cancer. 第66回日本癌学会学術総会。横浜（2007年10月） 18. Hosoyama H, Mitsuhashi J, Tsukahara S, Noguchi K, Katayama K, Ito Y, Hatake K, Aiba K, Takahashi S, Sugimoto Y. Identification of EVI1 and PRDM16 as retroviral integration sites in a clinical study of <i>MDR1</i> gene therapy. 第67回日本癌学会学術総会。名古屋（2008年10月） 19. Mitsuhashi J, Hosoyama H, Tsukahara S, Katayama K, Noguchi K, Ito Y, Hatake K, Aiba K, Takahashi S, Sugimoto Y. <i>In vivo</i> expansion of <i>MDR1</i>-transduced cells accompanied by a post-transplantation chemotherapy regimen with mitomycin C and methotrexate. J Gene Med, 12: 596-603 (2010)
備考 (共同研究機関の実施状況等)	

--	--

(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. この報告書は、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. 各項目数行程度で簡潔に記載すること。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」と記載し、別紙を添付すること。
5. 多施設共同臨床研究に該当する場合は、備考欄に共同研究機関の進捗状況を記載すること。