

悪性グリオーマに対する遺伝子治療

水野正明 吉田 純*

Gene Therapy for Malignant Glioma

by

Masaaki Mizuno, M.D., and Jun Yoshida, M.D.*

from

Department of Molecular Neurosurgery and *Neurosurgery, Nagoya University Graduate School of Medicine

The merging of bio-technology, nano-technology, and computer technologies has led to the creation of new advanced medical fields including gene therapy. In 2000, we started a clinical trial of the first original gene therapy for malignant glioma based on made-in-Japan technology, and confirmed the safety and effectiveness of this therapy. The results led to the founding of the Center for Genetic and Regenerative Medicine (CGRM), which is an institute to put advanced medicine into practice in our Nagoya University Hospital. In 2006, CGRM gained ISO (International Organization for Standardization) 9001:2000 and 13485:2003 accreditation. We are now the first academic institute in Japan to achieve ISO Certification. At CGRM we are making an effort to gain a better understanding of advanced medical services with the goal of ensuring that our patients receive the best available, safe and effective medical services.

(Received July 22, 2006; accepted July 24, 2006)

Key words : malignant glioma, gene therapy, advanced medicine**Jpn J Neurosurg (Tokyo) 15 : 700-704, 2006**

はじめに

近年、医療を取り巻く環境が急速に、かつ大きく変わりつつある。遺伝子治療が始まった1980年代後半から1990年代初頭にかけて、わが国はバブル成長期の真っただ中であつた。その後起こったバブル経済の崩壊は、社会のあらゆる分野に低迷をもたらし、今日に至ってもまだ社会のあちこちにその悲惨な爪痕を残している。一方、その間にわが国では少子高齢化が加速し、2005年には人口が初めて自然減少に転じた。これに合わせ、国民一人ひとりの価値観や生活観も大きく変わった。同時に、医学、医療に対する考え方も変わった。当然のことながら、先端医療開発の考え方も変わった。今、改めて遺伝

子治療を含む先端医療開発のあり方が問われている。本稿では、われわれが行っている悪性グリオーマに対する遺伝子治療を通して、これからの先端医療のあり方について展望したい。

遺伝子治療の現状

1980年代より急速に進歩した遺伝子操作技術や遺伝子導入技術は、1990年には、米国立衛生研究所 (NIH) の Blaese らによるアデノシンデアミナーゼ (ADA) 欠損症に対する遺伝子治療の実施を可能にした。そしてこれが本格的な遺伝子治療の幕開けとなった。現在までに、遺伝子治療のプロトコール数は1,000を超え、当該治療

名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野/〒466-8550 名古屋市昭和区鶴舞町 65 [連絡先: 水野正明]

Address reprint requests to: Masaaki Mizuno, M.D., Department of Molecular Neurosurgery, Nagoya University Graduate School of Medicine, 65 Tsurumai-cho, Showa-ku, Nagoya-shi, Aichi 466-8550, Japan

*同脳神経外科学分野

を受けた患者も 6,000 人に達している。しかしながら、残念なことにこれらの遺伝子治療の実施を通してわかってきたことは、マウスやラットなどの動物を中心とした前臨床研究が、必ずしもヒトでうまく反映されるわけではないといった厳しい現実であった。その理由にはさまざまなものがあるが、最も大きな要因は、遺伝子操作技術や遺伝子導入技術の未熟さにあった。

本来の遺伝子治療は、病的細胞内で、病因となる遺伝子のみを確実に修復し、疾病を治癒するものであるが、現行の遺伝子治療は、遺伝子をあたかも“くすり”の代用品として利用し、治療成績の向上を目指しているにすぎない。

一方、1990年に始まった国際共同研究プロジェクト「ヒトゲノムプロジェクト」は、2003年には、30億塩基対に上るヒトゲノムのすべての遺伝子配列を決定し公開した。この成果は、医学・医療の分野においては、遺伝子診断や遺伝子治療といった新しい医療概念の社会的定着を促進した。同時に、siRNAのような新しい核酸治療薬の開発をはじめとするゲノム創薬やゲノム創食といった新規医療分野の開拓につながった。

したがって、遺伝子ならびにその関連物質を用いた遺伝子医療の裾野は、これまでに実施された遺伝子治療の経験を活かしながら着実に広がりつつある。

悪性グリオーマに対する遺伝子治療

① 悪性グリオーマに関する最近の知見

最近、悪性グリオーマを含む脳腫瘍や白血病、乳癌、食道癌などで「癌幹細胞」という新しい概念が登場した¹⁾³⁾⁶⁾。すなわち、癌には「癌幹細胞」と呼ばれる「自己複製能」と「分化能」を兼ね備えた細胞が存在し、この細胞が癌組織を形成するといった概念である。「癌幹細胞」の概念は決して新しいものではなく、1970年代後半にはすでに発表されていたが、今日まで具体的な証明に至らなかった。この概念の信憑性については、まだまだ多くの研究成果が求められるが、結果次第では、癌治療の戦略を大きく変えうるものになる。すなわち、癌組織の中にあるわずかな「癌幹細胞」を叩くだけで、癌を完治できることになる。ひょっとすると、悪性グリオーマに対する治療においても、大きなブレイクスルーになるかもしれない。

② 悪性グリオーマに対する遺伝子治療

悪性グリオーマに対する遺伝子治療としては、自殺遺伝子治療、免疫遺伝子治療、細胞融解療法などがある。

悪性グリオーマに対する自殺遺伝子治療は、1992年、米国 NIH の Oldfield らによって始められた。治療は、単純ヘルペスウイルスチミジンキナーゼ (*HSV-tk*) と呼ばれる酵素遺伝子をレトロウイルスに組み込んだベクターを腫瘍内に直接注射したり、ベクター産生細胞を移植したりしてベクターを腫瘍細胞に感染させる。その後、抗ウイルス剤であるガンシクロビル (GCV) を点滴静注し、*HSV-tk* 遺伝子の入った腫瘍細胞の中で、GCV のリン酸化を促進する。リン酸化された GCV は毒性を発揮するため、腫瘍細胞はこれにより死滅する。この治療では、死滅した腫瘍細胞の周囲にいる *HSV-tk* 遺伝子が入っていない腫瘍細胞をも道連れに死滅させるバイスタンダー効果をみる²⁾。当該遺伝子治療は、米国ならびに欧州を中心に多施設共同試験が進められており、その一部は第3相試験に至っている。また、放射線治療との併用についても検討されている。

免疫遺伝子治療としては、*IFN-β*、*IGF-I*、*IL-4*、*IL-12*、*IL-2*、*GM-CSF*、*TGF-β* などのサイトカイン遺伝子を腫瘍細胞に導入し、免疫を惹起しようとする治療がある。われわれが行っている *IFN-β* 遺伝子治療もその一つである⁴⁾⁵⁾。

われわれの遺伝子治療の最も大きな特徴は、治療で用いられる製剤 (*IFN-β* 遺伝子包埋リポソーム製剤) を自らが調製している点にある。製剤調製は、附属病院内に設置した Good Manufacturing Practice (GMP) 準拠の遺伝子治療製剤調製室で行われている。これまでに5人の悪性グリオーマ再発症例に対し治療を実施し、約3年にわたる経過観察を行った。その結果、当該遺伝子治療の安全性には大きな問題はなく、また、有効性についても5症例中2症例で確認できた (治療後3カ月めの時点で50%以上の腫瘍の縮小効果を認めた)。有効と判定された2症例においては、治療後それぞれ、15カ月、16カ月間はまったく腫瘍の再発・再燃を認めず、有意義な社会生活を送った。しかしながら、その後治療部位とは異なった場所にそれぞれ播種を起し、最終的には治療後26カ月、29カ月でそれぞれ亡くなった。現在、症例数追加の申請を行っている。

一方、*IFN-β* 遺伝子の悪性グリオーマに対する有用性については、米国ペンシルバニア大学とアラバマ大学で、*IFN-β* 遺伝子を組み込んだアデノウイルスベクターを利用して検討されており、その結果が期待される。

また、当該遺伝子治療は、その適応を悪性黒色腫に拡大し、その安全性および有効性を検討している。悪性黒色腫においては、2005年7月までに5症例で実施し、その安全性および有効性の評価を行っている。

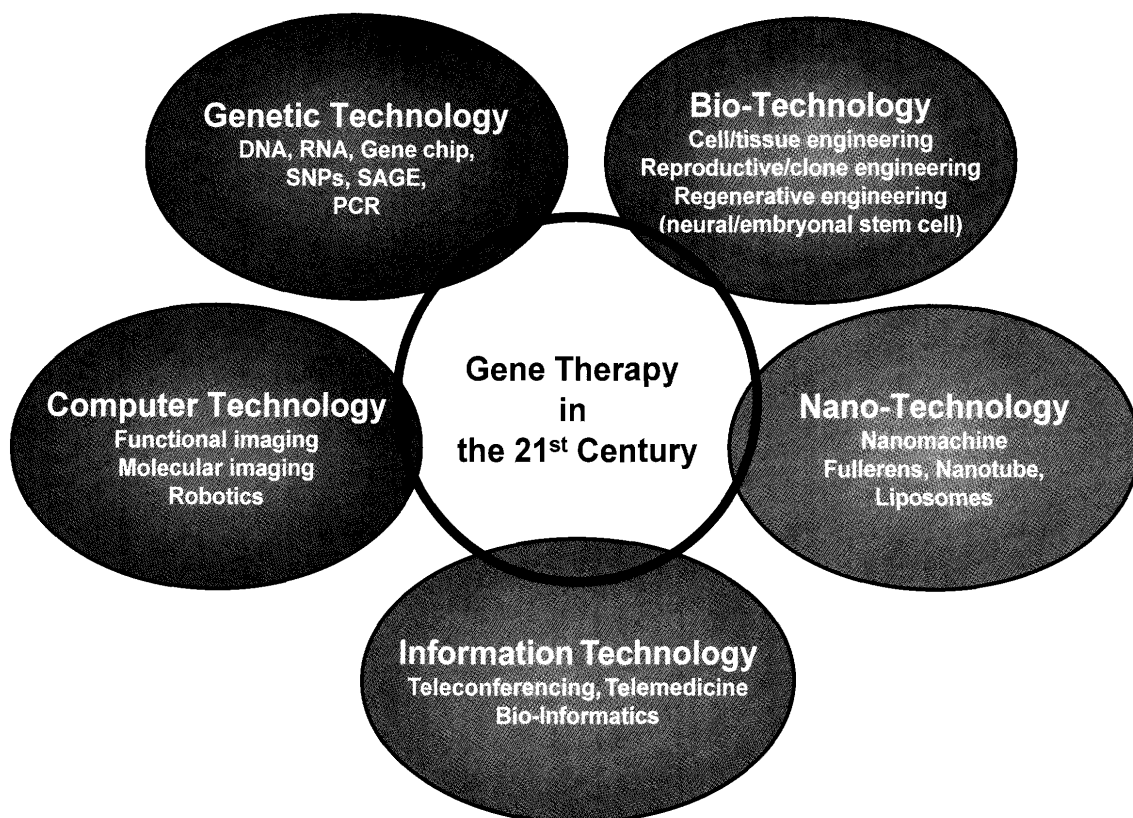


Fig. 1 Advanced technologies supporting gene therapy

遺伝子治療を取り巻く環境の変化

遺伝子治療が社会で注目されるようになった1980年代から1990年代初頭は、分子生物学とコンピュータテクノロジーが医学・医療を席卷していた。しかしながら、遺伝子組換え技術や遺伝子導入技術は、どこにでも行える技術ではなく、ある特定の施設に限られていた。コンピュータにおいても同様で、その普及は十分でなかった。2006年の現在では、上記した技術やインフラは、どこにでもある当たり前のものになっている。遺伝子治療を取り巻く先端技術を Fig. 1 に示す。遺伝子治療開始当時から関与してきたバイオテクノロジーやコンピュータテクノロジーに加え、新たにナノテクノロジーや情報テクノロジー (IT) などが加わった。また、その各テクノロジーの内容も大きく変化した。

一方で、先端医療開発の質の問題、患者の権利や保護に関する問題 (インフォームド・コンセントの定着)、グローバル化の中で繰り広げられる特許や利権の取得に関する問題、医療の産業化など、基本技術の進歩とは異なった領域での要求も増えている。そしてその多くが、患者を中心とした医療のあり方を問うもので、きわめて重要なものばかりである。

① 患者中心の先端医療開発

これまでの先端医療開発の多くは、医師が自らの判断で良し悪しを決め実施されてきたことから、臨床試験 (臨床研究および臨床治験を含む) の客観性には疑問が持たれていた。昨今、先端医療開発の“質”の高さがクローズアップされ、新規医療の有用性について客観的評価が求められるようになった。これに応えたのが1991年から始まった International Conference on Harmonization (ICH) である。臨床試験の実施基準を日米欧の3極間で統一し、データを相互利用できるにしようとするこの取り組みは、わが国においては、1997年の「医薬品の臨床試験の実施に関する基準 (Good Clinical Practice; GCP)」の改定に始まり、2003年7月および2005年4月に行われた薬事法改正の流れを生み出した (行政改革5カ年計画の一環)。これに関連した遺伝子治療関連の制度として、「医薬品の臨床試験の実施に関する基準」、「遺伝子治療臨床研究に関する指針」、「遺伝子治療臨床研究に関する倫理指針」、「臨床研究に関する倫理指針」、「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」ならびに生物多様性条約カルタヘナ議定書の国内担保法である「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」などが整備された。

これからの先端医療開発は、これらの制度に従い、よ

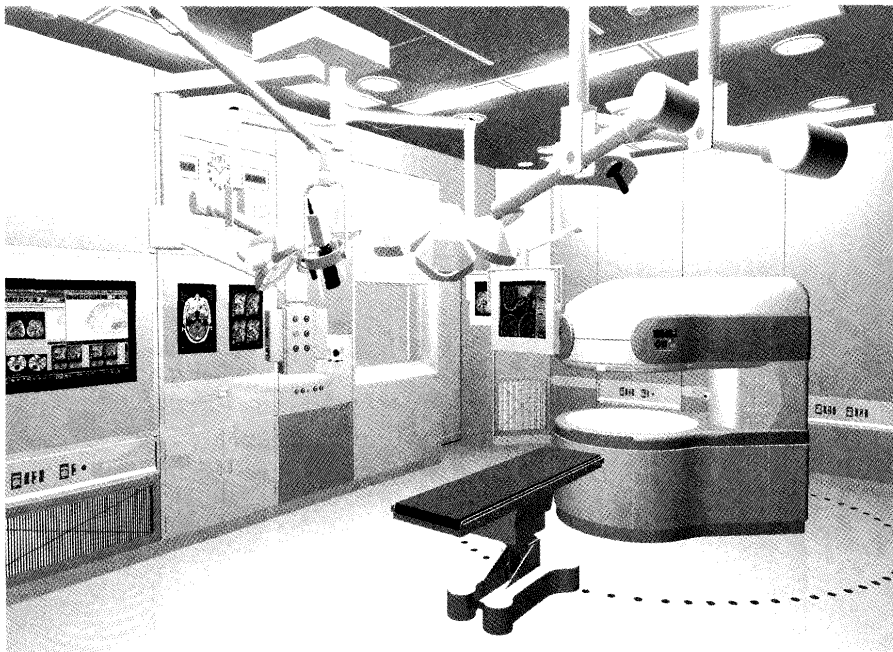


Fig. 2 Intraoperative MR system at Nagoya University Hospital (Brain THEATER)

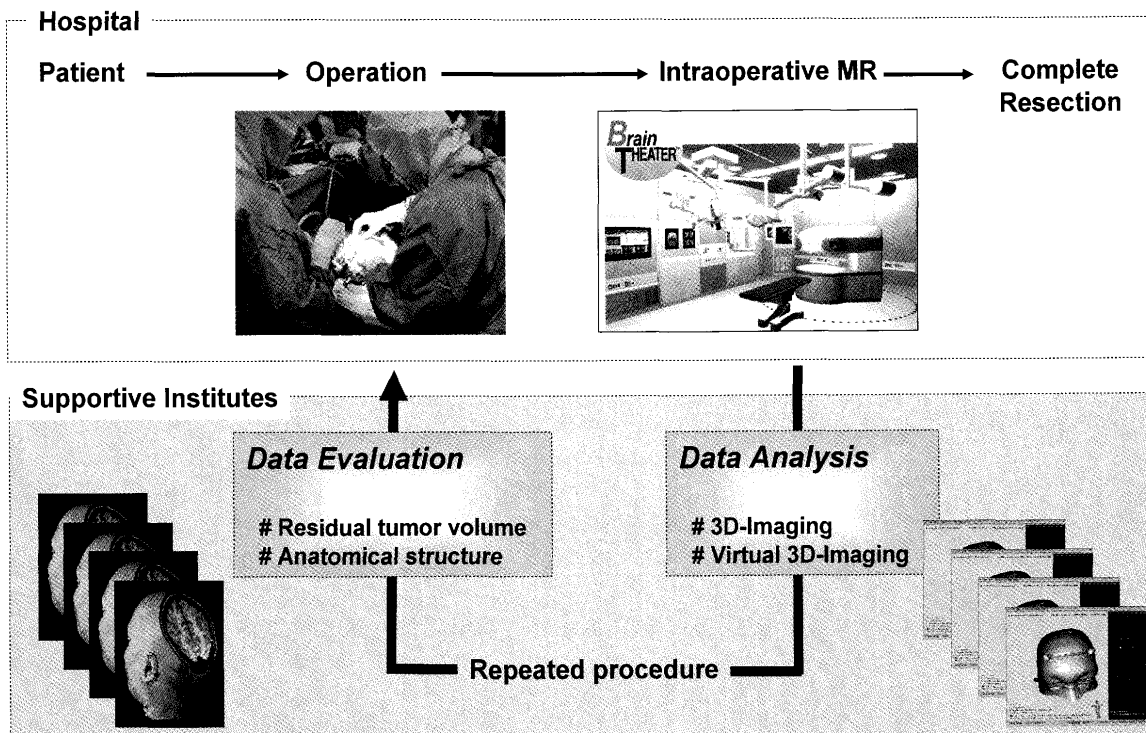


Fig. 3 Intraoperative MR-guided operation system at Nagoya University Hospital

り安全でより質の高い治療を，医療関係者のみでなく，患者とともに作り上げていくことが求められている。

一方で，われわれの施設では，患者に投与する遺伝子治療薬の品質保証を確実にするため，遺伝子治療薬調製施設（遺伝子・再生医療センター）の整備に加え，第三者認証を基本とした国際基準規格 ISO9001 および

ISO13485 を取得した。この取り組みは，わが国においてきわめて独創性の高いものであり，今後のトランスレーショナル・リサーチのあり方を示すモデルの一つとして期待されている。

② 手術技術の進歩

現在、われわれの施設で進めている遺伝子治療では、その性質上、脳の特定の部分に正確に、かつ確実に遺伝子治療薬を注入する手術技術が求められている。2000年に当該遺伝子治療を開始したときには、定位脳手術で用いられている技術を活用した。実際には、パーキンソン病などの治療（DBS 設置術など）で用いられる神経細胞の機能モニタリングシステムやナビゲーションシステムならびにマイクロマニピュレータ技術を活用した。しかしながら、当初から最も望まれた技術は、注入した遺伝子治療薬が目的とした腫瘍内に本当にフィットする形で注入できたか否かを評価する技術であり、生体内での遺伝子発現をイメージする技術である。そしてこれらの技術は、外科手術のあらゆる分野で求められている技術につながるものである。摘出の対象とした腫瘍が本当に全摘出できたのか、肉眼的所見や術者の印象ではなく、万人が認める客観的評価法が必要である。その一部を可能にするのが、術中 MR 技術である。当施設では、2006年3月から Fig. 2 に示すような術中 MR 装置が稼動し、その要求に応えようとしている。そして、この技術や施設を通して、診断と治療の一体型外科支援システムの開発に取り組んでいる (Fig. 3)。

おわりに

遺伝子治療は、悪性グリオーマを完治するといった大きな夢を実現する可能性を持っている。また、その夢の実現を後押しする先端技術（術中 MR 装置やそれに連動したナビゲーションシステムなど）が次々に誕生してい

る。一方で、患者の医療に対する意識の向上が進むにつれ、これまで主従関係にもみられていた医師と患者の関係が、お互いの立場を尊重しあうパートナー関係に変化しつつある。さらに、情報の共有化を通して多くの研究機関の結集と協力が可能になりつつある。このような診療科や研究機関の枠、患者や医師の枠を超えた協力が、近い将来、必ずや悪性グリオーマを完治するものと願ってやまない。

文 献

- 1) Al-Haji M, Wicha MS, Benito-Hernandez A, Morrison SJ, Clarke MF: Prospective identification of tumorigenic breast cancer cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 100: 3983-3988, 2003.
- 2) Culver KW, Ram Z, Wallbridge S, Ishii H, Oldfield EH, Blaese RM: *In vivo* gene transfer with retroviral vector-producer cells for treatment of experimental brain tumors. *Science* 256: 1550-1552, 1992.
- 3) Singh SK, Hawkins C, Clarke ID, Squire JA, Bayani J, Hide T, Henkelman RM, Cusimano MD, Dirks PB: Identification of human brain tumor initiating cells. *Nature* 432: 396-401, 2004.
- 4) Yoshida J, Mizuno M, Wakabayashi T: Interferon-beta gene therapy for cancer: Basic research to clinical application. *Cancer Sci* 95: 858-865, 2004.
- 5) Yoshida J, Mizuno M, Fujii M, Kajita Y, Nakahara N, Hatano M, Saito R, Nobayashi M, Wakabayashi T: Human gene therapy for malignant gliomas (glioblastoma multiforme and anaplastic astrocytoma) by *in vivo* transduction with human interferon beta gene using cationic liposomes. *Hum Gene Ther* 15: 77-86, 2004.
- 6) Yuan X, Curtin J, Xiong Y, Liu G, Waschmann-Hogiu S, Farkas DL, Black KL, Yu JS: Isolation of cancer stem cells from adult glioblastoma multiforme. *Oncogene* 23: 9392-9400, 2004.

要 旨

悪性グリオーマに対する遺伝子治療

水野 正明 吉田 純

バイオテクノロジー、ナノテクノロジーやコンピュータテクノロジーは、遺伝子治療をはじめとする新しい先端医療を生み出してきた。われわれはその時代の中で、2000年に純国産技術で作上げた最初の遺伝子治療を悪性グリオーマを対象に行い、その安全性および有効性を確認した。その成果は、名古屋大学医学部附属病院内に設置された先端医療開発施設、遺伝子・再生医療センターに引き継がれた。同センターでは、2006年、そこで作られる先端医療マテリアルの品質を保証するため、ISO9001(2000)および13485(2003)を取得した。この取得は、大学関連施設ではわが国初である。この施設での活動を通して、患者に役立つ新しい先端医療開発を進めていくことになっている。本稿では、われわれが行っている悪性グリオーマに対する遺伝子治療と、それに関連したわれわれの活動を紹介し、これからの先端医療のあり方について展望した。

脳外誌 15: 700-704, 2006