

遺伝子治療臨床研究実施計画について (京都府立医科大学附属病院)

- 京都府立医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について（がん遺伝子治療臨床研究作業委員会） P1
- がん遺伝子治療臨床研究作業委員会委員名簿 P7
- 遺伝子治療臨床研究実施計画申請書・概要書（改訂後） P8
- 遺伝子治療臨床研究実施計画書（改訂後） P22

平成 21 年 9 月 10 日

京都府立医科大学附属病院から申請のあった
遺伝子治療臨床研究実施計画に係る意見について

がん遺伝子治療臨床研究
作業委員会
委員長 島田 隆

京都府立医科大学附属病院から申請のあった下記の遺伝子治療臨床研究実施計画について、本作業委員会で検討を行い、その結果を別紙のとおりとりまとめたので報告いたします。

記

1. 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
申請者：京都府立医科大学附属病院 病院長 木下 茂
申請日：平成 20 年 7 月 30 日

1. 遺伝子治療臨床研究実施計画の概要

- (1) 研究課題名: 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
- (2) 申請年月日: 平成 20 年 7 月 30 日
- (3) 実施施設: 京都府立医科大学附属病院
代表者: 京都府立医科大学 病院長 木下 茂 (平成 21 年 3 月まで)
京都府立医科大学 病院長 岩井 直躬 (平成 21 年 4 月から)
- (4) 総括責任者: 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
- (5) 対象疾患: 進行期腎細胞癌
導入遺伝子: ヒト β 型インターフェロン遺伝子
ベクターの種類: プラスミド包埋正電荷リポソーム
用法・用量: 腎細胞がんの転移腫瘍病巣内に、リン酸緩衝液 1 ml 中に 30 μg DNA を含有するヒト 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を注入する。1 回につき注入最大 DNA 総量は 250 μg (8.3 ml) とし、週 1 回、合計 6 回注入する。
研究実施期間: 厚生労働大臣より了承された日から 3 年間
目標症例数: 5 例

(6) 研究の概略:

本研究は、原発腫瘍病巣の摘除術後、転移巣に対して行った免疫療法及び分子標的治療が無効等の予後不良進行期腎細胞癌患者を対象として、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転移腫瘍病巣内に投与する治療法の安全性の評価を主要エンドポイントとする。また、本治療法の有効性の評価を副次エンドポイントとする。

(7) その他 (外国での状況等):

本研究で使用するヒト 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は、名古屋大学において悪性グリオーマ 5 例を対象として、また、信州大学において悪性黒色腫 5 例を対象として実施された遺伝子治療臨床研究で使用されたものと同じものであり、これらの臨床研究では、今回の臨床研究よりも少ない投与量であるが、特に問題となる副作用は認められていない。

また、米国において非ウイルスベクターを用いる点が類似する臨床研究が 2004 年に報告されている。進行期悪性腫瘍に対しインターロイキン 2 遺伝子の正電荷リポソーム製剤を用い、登録腎細胞がん患者 31 例中、著効 1 例 (3%)、有効 2 例 (6%)、安

定7例(23%)、進行21例(68%)であり、嘔気、アレルギー反応等の軽度から中等度の副作用は認められたが、重篤な副作用は観察されず、治療開始後の生存期間は2~72ヶ月(中央値11ヶ月)であり、1年生存率は48%、3年生存率は19%であった。

2. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議概要

1) 第1回審議

① 開催日時：平成20年10月7日(火) 15:00~17:15

② 議事概要：

平成20年7月30日付けで京都府立医科大学附属病院より申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画(対象疾患：進行期腎細胞癌)について第1回目の審議を行った。

まず、研究実施計画について同病院の総括責任者らから説明を受けた後、説明及び提出資料を基に、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行った。

各委員の意見については、事務局で整理の上、本作業委員会の意見として申請者に検討を依頼することとし、その結果を基に再度審議することとした。

(本作業委員会の意見)

1. 同一の遺伝子治療薬を用いた名古屋大学や信州大学における臨床研究の経験を今回の進行期腎細胞癌の臨床研究の計画にどのように活用したのか説明すること。
2. 8年間で5症例という研究計画であるが、これまでの臨床研究の経験等も踏まえ、より短期間で研究ができないか、研究計画の修正を検討すること。
3. ソラフェニブ及びスニチニブの有効性及び安全性に関する情報について、分かりやすく患者への同意説明文書に記載すること。また、現時点では、ソラフェニブ及びスニチニブによる治療が行われていることを踏まえて、研究計画に必要な修正を行うこと。
4. 投与量を腫瘍体積と同体積とし、最大DNA投与量が250 µgであることから、一回あたりの腫瘍総体積の上限が8.3 mlと規定されることについて、患者への同意説明文書も含め、関係文書の記載を適切に修正すること。
5. Grade 3の有害事象が出現した場合、審査委員長の承認がなくても当該被験者に対する臨床研究を中止可能な計画に改めること。
6. 転移巣に対する手術療法の有効性及び予後に関する情報について、患者への同意説明文書に記載すること。

7. 臨床研究実施中に中枢神経系の転移が発見された場合の対応、及び経過観察期間中に他の治療法に変更する可能性について説明し、その内容について、患者への同意説明文書への記載も検討すること。
8. 深部臓器への転移巣も投与の対象とするのであれば、その旨を明記すること。また特に、肺転移に対する投与による気胸や、肝臓への投与による一過性の低血圧の可能性に関して、患者への同意説明文書に記載すること。

2) 第2回審議

① 開催日時： 平成21年6月23日(火) 10:00~12:00

② 議事概要：

前回の審議における本作業委員会の意見に対し、京都府立医科大学附属病院から回答書及び追加資料が提出されたことを受けて、第2回目の審議を行った。

まず、回答書及び追加資料について同病院の総括責任者らから説明を受けた後、委員間で実施計画の妥当性等について審議を行った。

その結果、本実施計画を概ね了承することとしたが、同意説明文書の記載等に関して委員より指摘のあった点については、申請者と事務局との間で整備の上、委員長の確認を得た後に、次回以降の科学技術部会に報告することとされた。

(なお、これら実施計画書等の整備については、平成21年9月10日に委員長了承。)

(各委員からの主な指摘の内容)

1. 同意説明文書に関し、分子標的治療薬の無効例が本臨床研究の対象であることを踏まえ、以下の点について検討すること。
 - 1) 「…免疫治療が無効となった患者さんに対する効果が期待できるものの、まだ確実に有効な治療とは言えない状況」との記載に関して、「…免疫治療が無効となった患者さんに対する効果が期待できるものの、効果の得られない患者さんもあり、まだ確実に有効な治療とは言えない状況…」へ修正。
 - 2) 「(2)今後のあなたの治療法」に関して、「…免疫療法などにより腎細胞癌の治療成績は向上…」から「…免疫療法及び分子標的治療薬による治療などにより腎細胞癌の治療成績は向上…」へ修正。
 - 3) 各治療法の長所と短所の表に関して、保険が適応される治療法とそうでない治療法が区別できるよう記載の修正。
2. 同意説明文書に関し、以下の記載整備について検討すること。
 - 1) 「遺伝子治療とは健康なヒトの細胞の中にある遺伝子を一部取り出して加工し、」との記載中、「健康なヒトの細胞の中にある」との記載の削除。
 - 2) インターフェロンの効果を黄体ホルモンと比較した記載に関する、黄体ホルモン治療についての説明の追記。
 - 3) 「…スニチニブとインターフェロン α を比較した試験では、インターフェロン

αによる腫瘍縮小効果が10~20%の患者さんに認められた…」との記載に関する、根拠となる文献データの確認、及び適切な修正。

4) 有害事象発生時の対応に関する追記。

3. 臨床研究終了後の追跡調査について、実施計画中に明記すること。

4. 体内分布に関するマウスにおける実験結果に関して、精巣に関するデータを精査の上、適切に追記すること。また、遺伝子治療臨床研究実施計画書中の「…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…」との記載に関して、「…最終の遺伝子治療後、最低1年間はバリア型避妊法等により確実な避妊を行うことのできる…」等への修正を検討すること。

3. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会における審議を踏まえた第1回審議時からの実施計画及び被験者への同意説明文書の主な変更内容

- ・ 症例登録期間が3年から2年に、経過観察期間が5年から1年に変更された。
- ・ 分子標的治療薬による腎細胞癌治療等について、最近の情報に基づく記載に修正され、本遺伝子治療の対象は分子標的治療薬無効等の場合である旨規定された。
- ・ Grade 3以上の有害事象が出現した場合、速やかに審査委員長等に報告を行うが、その承認がなくとも総括責任者の判断のもとで継続の可否を決定できる旨規定が修正された。
- ・ 一回あたりの最大注入DNA総量が250 µg (8.3 ml)であること、及び腫瘍あたりの製剤注入量は腫瘍体積と同容積であり、治療対象総腫瘍体積が8.3 mlであることが実施計画書及び同意説明文書に記載された。
- ・ 遺伝子治療臨床研究実施中に中枢神経系への転移が確認された場合は、速やかに脳神経外科及び放射線科などと協議し、放射線治療もしくは手術等の中枢神経系転移に対する治療を検討する旨の規定が追加された。
- ・ 複数回の穿刺が安全にできる部位であれば深部臓器への転移病巣をも治療対象とする旨、及びプラスミド投与による遺伝子治療において、肺転移への投与で気胸が、及び肝臓への投与で一過性の低血圧が報告されている旨、同意説明文書に記載された。
- ・ 気胸の可能性があり、安全に投与を継続することを考慮し、週2回、合計6回投与の計画が週1回、合計6回投与に修正された。

- ・ 1年間の観察期間終了後も、外来通院にて少なくとも2年間の追跡調査を行い、病状等に応じた対応を行う旨、同意説明文書に記載された。
- ・ 有害事象発生時の対応に関して、同意説明文書に詳細に記載された。

4. がん遺伝子治療臨床研究作業委員会の検討結果

京都府立医科大学附属病院から申請のあった遺伝子治療臨床研究実施計画（対象疾患：進行期腎細胞癌）に関して、がん遺伝子治療臨床研究作業委員会は、主として科学的観点から以上のおり論点整理を進めて、それらの結果を実施計画及び患者への同意説明文書に適切に反映させた。その上で、本作業委員会は本実施計画の内容が科学的に妥当であると判断した。

次回以降の科学技術部会に報告する。

**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**

氏 名	所 属
あさの 浅野 しげたか 茂隆	早稲田大学理工学術院特任教授
あらと 荒戸 てるよ 照世	医薬品医療機器総合機構生物系審査部審査役
おざわ 小澤 けいや 敬也	自治医科大学医学部教授
かねこ 金子 しゅういち 周一	金沢大学医薬保健研究域医学系教授
かねだ 金田 やすふみ 安史	大阪大学大学院医学系研究科教授
さいとう 斎藤 いずむ 泉	東京大学医科学研究所遺伝子解析施設教授
○しまだ 島田 たかし 隆	日本医科大学医学部教授
はまだ 濱田 ひろふみ 洋文	札幌医科大学教授
はやかわ 早川 たかお 堯夫	近畿大学薬学総合研究所所長

○委員長 (五十音順 敬称略)

(平成21年6月11日現在)

遺伝子治療臨床研究実施計画申請書

平成20年7月30日

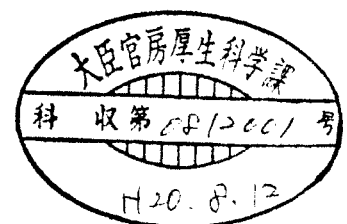
厚生労働大臣 様

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 (職印)

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
研究実施期間	厚生労働大臣による了承の日より3年間

総括責任者	所属部署の所在地	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
	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
	三神 一哉	京都府立医科大学大学院医学研究科 泌尿器外科学 助教	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	中村 晃和	京都府立医科大学大学院医学研究科 泌尿器外科学 助教	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	山上 卓上	京都府立医科大学大学院医学研究科 放射線診断治療学 講師	遺伝子製剤の投与、効果判定、安全性の確認
	若林 俊彦	名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科学 教授	遺伝子製剤の調製、管理、輸送の監督・指導と本臨床研究に対する総括的指導
	吉田 純	独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院 院長	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			
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="width: 40%; padding: 5px;">審査委員会の長の職名</td> <td style="padding: 5px;">氏名</td> </tr> <tr> <td style="padding: 5px;">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</td> <td style="padding: 5px;">伏木 信次 </td> </tr> </table>	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
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 を含む免疫療法およびソラフェニブ、スニチニブを含む分子標的治療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 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、局所のおよび全身的効果を判定する。本臨床研究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有効とされている。しかし、本邦で一般的に使用される α 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、満足のものではない。また、α 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と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で発生する。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。一方、スニチニブやソラフェニブなどの複数のキナーゼを阻害する経口薬が近年、開発された。これらは、その作用により腫瘍細胞の増殖と血管新生を阻害する分子標的治療薬である。海外では、これらの分子標的治療薬を用いて転移を有する腎癌症例を対象にした第 III 相の臨床試験が行われた。スニチニブと α 型インターフェロンの比較では、スニチニブが奏効率および無増悪生存率において α 型インターフェロンよりも良好な成績が報告されている。スニチニブおよびソラフェニブの奏効率はそれぞれ 37%、11% であるが、両者の CR 率はともに 1% 未満であり、1 年無増悪生存率は 10-20% 程度である。日本国内でも、両薬剤の第 II 相臨床試験がすでに行われ、ほぼ同様の奏効率が確認されている。また、2008 年より日本国内では、両薬剤の保険適応が承認された。従来の抗癌剤や免疫療法ではみられなかった高血圧、手足症候群、甲状腺機能低下症などの副作用が出現することも明らかになり、嚴重な経過観察のもとに投与すべき治療薬であると認識されている。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およびスニチニブ、ソラフェニブなどによる分子標的治療を超える治療法は、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)で処理した場合に、ヒトβ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β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β型インターフェロン遺伝子の複数回導入を試みたところ、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β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)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β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β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β型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFNβ 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 の不要な断片を欠失させ、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-IFNβ (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β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-(α-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-ホスファチジエタノールアミン (DOPE)]に包埋して行う。粒子径は 0.5-2μm である。このようにして調製された、内部にヒトβ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>本臨床研究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、</p>

	<p>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 μM 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 β 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 μg とした。これは、信州大学の 1 回あたり最大投与量 150 μg 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 μg DNA、最大総投与量 180 μg 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 μg 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 μg 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(河内、沖原、高羽、三神、中村)は京都府立医科大学附属病院泌尿器科を中</p>

	<p>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、腎細胞癌に対する助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、若林、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87.5μl]）内に、30μgのDNAを注入（0.34μgDNA/μl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 250μg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"> 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）。 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。 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。 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を含む免疫療法およびスニチニブ、ソラフェニブなどによる分子標的治療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、担当医の判断で不相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実行責任のもとに行

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2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1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3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。肺、肝、リンパ節の転移病巣を主な対象病変とするが、複数回の穿刺が安全にできる部位であれば、深部の病変も治療対象とする。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 μ g DNA を含有する製剤を注入する。腫瘍あたりの製剤注入量は、腫瘍体積[長径cm×(短径cm)²×0.5(ml)]と同容積とし、1回当たりの注入最大 DNA 総量は 250 μ g (8.3ml) とする。なお、治療対象とする総腫瘍体積の上限を 8.3ml とする。超音波あるいは CT ガイド下穿刺用の穿刺針を用いて穿刺し、微量注入ポンプを用いて注入する。注入は週1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 μ g DNA 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 μ g までとする。各症例について投与開始から7週後と11週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13週後に安全性(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6週間、経過観察期間5週間の計11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 SD (安定)もしくは PR (有効)以上の反応が認められ、かつ開始より13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13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例の1回目以降の投与量は、上述の通り、腫瘍体積と同容積とし、1回当たりに注入する DNA 総量の上限を 250 μ g 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13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。

なお、本遺伝子治療を実施中に中枢神経系への転移が確認された場合は、速やかに脳神経外科および放射線科などと協議し、ガンマナイフおよびサイバーナイフなどの放射線治療もしくは手術などの中枢神経系転移に対する治療を検討する。中枢神経系転移の状態および全身状態より判断し、可能であれば本遺伝子治療を継続するが、継続困難な場合には本遺伝子治療を中止し、中枢神経系転移の治療を開始する。いずれの場合も、患者に病状を説明し了承を得ることとする。また、本遺伝子治療完了後、経過観察中にいくつかの病変が進行した場合には、患者に説明し了承を得た上で他の治療へ変更する。

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6週間は週1回、それ以

降 11 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 7 週目と 11 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 β 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。
- 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- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , 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- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , 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 β 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 β 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するものとし、総括責任者の判断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 7 週以降も 11 週まで毎週定期的に行われ、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

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

	<p>Evaluation Criteria in Solid Tumors)に準じて、著効、有効、安定、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</p> <p>(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</p> <p>(2) Performance Status の変化</p> <p>③ 中止判定基準</p> <p>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。</p> <p>(1) 外科的治療が必要とされる出血</p> <p>(2) アナフィラキシーショック</p> <p>(3) その他、重篤な臓器障害</p> <p>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7週目と11週目の主治医による評価と13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</p> <p>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)、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(6%)で有効、7例(23%)で安定、21例(68%)で進行とい</p>

	<p>う結果であった。また、この臨床研究では最大 4,000 μg 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。</p> <p>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。</p>
--	---

(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。

(別添) 治療および観察項目のスケジュール

リボソーム製剤の投与	項目	1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目	
		投与前 一週 以内	第1週 Day1 治療前	Day1 治療後	第2週 Day8 治療前	Day8 治療後	第3週 Day15 治療前	Day15 治療後	第4週 Day22 治療前	Day22 治療後	第5週 Day29 治療前	Day29 治療後	第6週 Day36 治療前
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7週	第8週	第9週	第10週	第11週
	Day43	Day50	Day57	Day64	Day71
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	○				○

(上記のようにコースを1週とする)
(入院は原則として7週間必要)

項目	第15~55週
	第(4n+3)週 (n=3~13) (1回/4週)
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j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一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

遺伝子治療臨床研究実施計画書

目次

	ページ
1. 遺伝子治療臨床研究の名称	4
2. 統括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割	4
(1) 総括責任者の氏名	4
(2) 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割	4
(3) 実施施設の長	6
3. 実施施設の名称及びその所在地	6
4. 遺伝子治療臨床研究の目的	6
5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由	7
(1) 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合	7
① 対象疾患に関する現時点での知見	7
② 当該遺伝子治療臨床研究の概要	8
③ 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由	9
(2) 治療法の開発を目的とした遺伝子標識臨床研究を行う場合	11
6. 遺伝子の種類及びその導入方法	11
(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質	11
(2) 本計画で使用するその他の組み換え DNA の構造と性質	11
(3) 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由	11
(4) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由	11
(5) 遺伝子導入に用いるプラスミドの調製	11
(6) IAB-1(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)	12
7. これまでの研究成果と文献的考察	13
(1) ヒト β 型インターフェロンとその腎細胞癌への効果	13
(2) 遺伝子導入に必要なリポソームの開発とその特性	14
(3) 遺伝子導入によるヒト β 型インターフェロンの発現	14
(4) 遺伝子導入により産出されるヒト β 型インターフェロンの抗腫瘍効果	15
8. 安全性についての評価	16
(1) 遺伝子導入方法の安全性	16

(2) 遺伝子産物の安全性	19
9. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由	20
10. 遺伝子治療臨床研究の実施計画	20
(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画	21
(2) 被験者の選択基準及び除外基準	21
(3) 被験者の同意の取得方法	22
(4) 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	22
(5) 実施期間及び目標症例数	23
(6) 遺伝子治療臨床研究の実施方法	23
① 対照群の設定方法	23
② 遺伝子導入方法	23
③ 前処置及び併用療法の有無	24
④ 臨床検査項目及び観察項目	24
⑤ 予想される副作用及びその対処方法	27
⑥ 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	27
⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式	29
⑧ 記録の保存及び成績の公表の方法	29
(7) 本臨床研究における個人情報保護	29
(8) 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	32
<説明と同意書の書式は資料9～11に記載>	
(9) 本遺伝子治療臨床研究の責任の所在	32
11. 腎細胞癌の遺伝子治療に関する国内外の研究状況	33
(1) 腎細胞癌に対する各種遺伝子治療の現状	33
(2) リポソームを用いた遺伝子治療の開発	34
(3) ヒトインターフェロンを発現するベクターを用いた遺伝子治療の現状	36
12. 実施施設の施設設備の状況	37
13. 研究者の略歴・研究業績	38
(1) 研究者の略歴	38
(2) 研究者の研究業績	43
14. その他必要な事項	69
(1) 文献	69
(2) 表	72
(3) 図	77

添付資料

資料 1:IAB-1 による細胞毒性の評価

資料 2:IAB-1 のマウスへの投与後の臓器移行

資料 2-1:IAB-1 のマウス脳内投与後の臓器移行

資料 2-2:IAB-1 のマウス静脈内投与後の臓器移行

資料 3:腎癌 Stage-病期分類(腎癌取扱い規約、第3版、1999年)

資料 4:Performance Status (ECOG: Eastern Cooperative Oncology Group)

資料 5: 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

資料 5-1: 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規程

資料 5-2: 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委員名簿

資料 5-3: 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

安全・効果評価・適応判定部会要綱

資料 5-4: 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 安全・効果評価・
適応判定部会 委員

資料 6:RECIST guideline

資料 7:腎癌 治療効果判定基準(腎癌取扱い規約、第3版、1999年)

資料 8:Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) 日本語訳 JCOG 版

資料 9: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のための説明書・同意書

資料 10: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おける遺伝子解析に関する研究の説明書・同意書

資料 11: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の追加継続についての説明書・同意書

1. 遺伝子治療臨床研究の名称

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

2. 総括責任者及びその他の研究者の氏名並びに当該遺伝子治療臨床研究において果たす役割

(1) 総括責任者の氏名

氏名:三木恒治

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学

役職:教授

(2) 総括責任者以外の研究者の氏名及びその担当する役割

氏名:高羽 夏樹

所属:京都府立医科大学医学部医学科・腫瘍薬剤制御学講座

役職:准教授

役割:名古屋大学附属病院において本遺伝子治療臨床研究に用いるヒト 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を作製し、その品質管理並びに安全性を確認する。さらに、京都府立医科大学附属病院において臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。さらに、生検標本におけるアポトーシス等の免疫組織化学的検索などを実施する。

氏名:河内明宏

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学

役職:准教授

役割:臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。

氏名:沖原宏治

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学

役職:講師

役割:臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書

に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。

氏名:三神一哉

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学

役職:助教

役割:臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。

氏名:中村晃和

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学

役職:助教

役割:臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。

氏名:山上卓士

所属:京都府立医科大学大学院医学研究科・放射線診断治療学

役職:講師

役割:臨床研究を実施する。患者及び家族への十分な説明と同意を得た後、実施計画書に従い、本遺伝子治療臨床研究を行う。臨床研究実施中は臨床経過を観察すると共に安全性及び効果を評価し、総括責任者に報告し説明する。

氏名:若林俊彦

所属:名古屋大学大学院医学系研究科・脳神経外科学分野

役職:教授

役割:本遺伝子治療臨床研究につき基礎的、臨床的に総括的指導、助言を行う。遺伝子製剤の作製、調製とその輸送についても監督、指導を行う。

氏名:吉田 純

所属:独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院

役職:院長

役割:本遺伝子治療臨床研究につき基礎的、臨床的に助言を行う。

氏名:水野正明

所属:名古屋大学大学院医学系研究科・遺伝子治療学分野

役職:准教授

役割:本遺伝子治療臨床研究に用いるヒト 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を名古屋大学附属病院において作製し、その品質管理並びに安全性を確認する。またヒト 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による悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究の経験に基づき、本臨床研究に対し助言を行う。

(3) 実施施設の長

氏名:木下茂

所属:京都府立医科大学附属病院

役職:病院長

役割:総括責任者から遺伝子治療臨床研究の実施もしくは重大な変更についての了承を求められた際に、審査委員会および厚生労働大臣に意見を求めるとともに、当該意見に基づき必要な指示を与え、実施もしくは変更を了承する。遺伝子治療臨床研究の進行状況および結果について、総括責任者又は審査委員会から報告又は意見を受け、必要に応じ、総括責任者に対しその留意事項、改善事項等に関して指示を与えると同時に厚生労働大臣に対し報告を行う。総括責任者から受理した総括報告書の写しを速やかに厚生労働大臣に提出する。被験者の死亡その他遺伝子治療臨床研究の実施に際して生じた重大な事態および遺伝子治療臨床研究の実施に影響を及ぼすおそれがある情報について、速やかに厚生労働大臣に報告する。本臨床研究あるいは類似したプロトコールにおいて、重大な副作用が発生した場合、これを速やかに統括官庁へ報告する。

3. 実施施設の名称及びその所在地

名称:京都府立医科大学附属病院

所在地:京都市上京区河原町通広小路 上る 梶井町 465 郵便番号 602-8566

電話番号:075-251-5111

病院長:木下茂

4. 遺伝子治療臨床研究の目的

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 を含む免疫療法およびソラフェニブ、スニチニブを含む分子標的治療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 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、局所のおよび全身的効果を判定する。本臨床研究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。

5. 遺伝子治療臨床研究の対象疾患及びその選定理由

(1) 治療を直接の目的とした遺伝子治療臨床研究を行う場合

① 対象疾患に関する現時点での知見

A. 腎細胞癌の発生頻度

わが国の腎細胞癌による死亡率は年々増加する傾向にある。1960年に10万人当たり0.5であった死亡率が、1980年1.2、1990年2.1、1994年2.5と約35年間で5倍近くに増加している。現在の罹患率は10万人当たり8～10人である¹⁾。米国でも腎細胞癌は増加傾向にあり、2005年には36,160人の新たな腎細胞癌患者が発生し、12,660人が死亡していると推測されている²⁾。

B. 腎細胞癌の治療と予後

転移のない腎細胞癌の治療の第一選択は外科的摘除術である。その予後は良好で、5年生存率は約80～90%である^{1, 2)}。しかし、他の悪性腫瘍と同様にリンパ節転移や遠隔転移を生じると予後は急速に悪化する。他臓器転移を有する腎細胞癌患者の5年生存率は約10～30%程度である^{1, 2)}。また、転移のある腎細胞癌に対しても後述する免疫療法の効果増強のため、可能な限り腎摘除が行なわれる。

腎細胞癌は化学療法に抵抗性の癌であり、同癌患者における化学療法の奏効率は10%以下である。またホルモン療法も過去に有効性が報告されたが、その後の検討では奏効率は3%以下であると判明している¹⁾。さらに、放射線療法に関しても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¹⁾。

以前より腎細胞癌は自然治癒の割合が高い点、免疫力の低下する50歳代以降の腎細胞癌に転移が多い点、長期経過後の晩発性再発を示す点などから、癌の中でも比較的宿主の免疫力に左右されやすい傾向が高いと考えられている。実際に他臓器転移を含む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いわゆる免疫療法が有効とされている^{3, 4)}。本邦で腎細胞癌に保険適用がある主なサイトカイン製剤は、 α 型インターフェロン・ γ 型インターフェロン・インターロイキン2の3剤である。また、 β 型インターフェロンの単独療法も過去に検討されており、ほぼ α 型インターフェロンの単独療法と同等の治療成績が報告されている^{5, 6)}。 α 型と β 型インターフェロンはレセプターを共有し、その生物学的活性は類似している。

違いとしては、 β 型インターフェロンは、筋肉内投与を行った場合、組織親和性が高く、血中濃度の上昇をほとんど認めないため、進行性腎細胞癌の患者に対しては経静脈的な投与が行われることが上げられる。腎細胞癌患者に対して用いられる場合、全身投与が基本となるため、筋肉内投与で治療効果のあるレベルまで血中に拡散する α 型インターフェロンの方が、臨床使用での簡便性が高く、本邦では β 型インターフェロンは腎細胞癌に対し、現在では保険適用とはなっていない。しかし、進行性腎細胞癌に対し最も一般的に使用されている α 型インターフェロンでも、単独療法での奏効率は約15~20%と満足のものではない^{1, 3, 4, 7)}。さらに近年、転移性腎細胞癌に対する免疫療法の奏効率向上のため、欧米でよく用いられているインターロイキン2に代表される他のサイトカインや各種抗癌剤との併用療法なども試されている。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、明らかにこれまでの α 型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^{3, 7-9)}。また、その副作用も強い。我々は最近エビデンスに基づいた腎細胞癌に対する免疫療法の治療成績及びその評価を論評としてまとめた⁷⁾。

一方、スニチニブやソラフェニブなどの複数のキナーゼを阻害する経口薬が近年、開発された。これらは、その作用により腫瘍細胞の増殖と血管新生を阻害する分子標的治療薬である。海外では、これらの分子標的治療薬を用いて転移を有する腎癌症例を対象にした第III相の臨床試験が行われた¹⁰⁻¹¹⁾。スニチニブと α 型インターフェロンの比較では、スニチニブが奏効率および無増悪生存率において α 型インターフェロンよりも良好な成績が報告されている。スニチニブおよびソラフェニブの奏効率はそれぞれ37%、11%であるが、両者のCR率はともに1%未満であり、1年無増悪生存率は10-20%程度である。日本国内でも、両薬剤の第II相臨床試験がすでに行われ、ほぼ同様の奏効率が確認されている。また、2008年より日本国内では、両薬剤の保険適応が承認された。従来の抗癌剤や免疫療法ではみられなかった高血圧、手足症候群、甲状腺機能低下症などの副作用が出現することも明らかになり、厳重な経過観察のもとに投与すべき治療薬であると認識されている。

近年、骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植、いわゆるミニ移植が転移性腎細胞癌に対して有効であるという報告がなされ、第一報では奏効率が53%と報告されたことから、注目を浴びている¹²⁾。しかし、機序については不明な点が多く、その後の追試では奏効率は他の免疫療法とほぼ同等の10~20%と報告しているものもある。また、技術的に複雑であり高額の治療費を必要とするなどの問題点も指摘されている。一方、樹状細胞や癌特異的ペプチドなどを用いた新規免疫療法も注目されており、国内でも数施設にて実施されてきているが、現段階では実験的治療の域を出ていないのが現状である¹³⁾。

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・インターロイキンなどを使用した免疫療法およびスニチニブ、ソラフェニブなどによる分子標的治療を超える治療法は、現時点では認められず、その奏効率自体も低い。よって、新たな治療法の開発が急務とされている。

② 当該遺伝子治療臨床研究の概要

遺伝子治療は外来遺伝子を体内に導入し、難病を治療しようとするものであるため、遺伝子

を安全かつ効果的に導入・発現させることが必要である。遺伝子欠損症のような場合には欠損している遺伝子を外部より導入し、安全に発現し続けることが必要であるが、本研究の場合のごとく、癌細胞に導入してその増殖の阻止または細胞を死滅させることを目的とする場合には、その発現期間は細胞を死滅させうるに足る時間で十分である。応用生化学研究所所長の八木は1985年から厚生省新薬開発研究医薬品担体応用リポソーム開発研究班の班長として、抗癌剤や酵素蛋白質を標的細胞に導入する研究を行ってきたが、1990年より本研究の分担研究者である吉田らとともに遺伝子を細胞に導入発現する研究に着手した¹⁴⁾。以後、この研究を発展させ、正電荷リポソーム包埋による遺伝子の導入を癌の治療に応用することを目指し、まずグリオーマへの効果が期待されていたヒトβ型インターフェロンに注目し、その遺伝子をグリオーマ細胞に導入、発現させる研究に取り組んだ。動物実験を含む各種の基礎実験にて安全性と効果に関する十分な検討を行ったうえで¹⁴⁻¹⁸⁾、学内、旧厚生省、旧文部省の許可をえて、研究分担者である吉田と水野ら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、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(IAB-1)を用いるグリオーマの遺伝子治療の臨床研究を開始した。この遺伝子治療によると考えられる重大な有害事象は何も認められていない。第1例目では遺伝子包埋リポソームの懸濁液製剤を用いたが、その後、この製剤の凍結化・凍結乾燥化に成功し、より長期の安定性および保存性を確保すると同時に液剤と同等の品質・効果を確認している。第2例目以降のグリオーマ症例の遺伝子治療には、凍結剤を用いた臨床研究を行い、安全性及び有効性を評価している。そこで、本臨床研究では、安全性と保存性に優れる凍結乾燥剤を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、調製し、名古屋市の名古屋大学医学部附属病院から京都市の京都府立医科大学附属病院へ輸送後、使用に供する。なお、この輸送および使用法は既に厚生労働省の認可の上、信州大学において悪性黒色腫に対して実施されたものと同一方式である。本遺伝子治療臨床研究では、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、インターロイキンを含む免疫療法やスニチニブ、ソラフェニブなどの分子標的治療薬が無効であった腎細胞癌患者の転移巣にIAB-1を局所投与し、その安全性と有効性を判定する。

③ 他の治療法との比較及び遺伝子治療を選択した理由

前述したように、進行期腎細胞癌に対してはα型インターフェロン、インターロイキン2に代表される天然型あるいは遺伝子組換え蛋白を用いた免疫療法およびスニチニブ、ソラフェニブなどの分子標的治療薬以外、現在のところ有効な治療法は確立されていない。しかし、このような免疫療法の奏効率は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^{3, 4, 7-9)}。また、分子標的治療薬の奏効率は10-40%あるもののCR率は1%未満と低く、長期予後についてはまだ不明な点が多い。経口投与されるが、高血圧、手足症候群、甲状腺機能低下症などの副作用が比較的高頻度に認められている。

我々はすでにヒト腎細胞癌細胞株(NC65)を用いた実験で、内部に pSV2IFN β を包埋した IAB-1[以下、IAB-1(pSV2IFN β)と略す]で処理した場合に、ヒト β 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 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 IAB-1(pSV2IFN β)処理によって効率よく誘導できることを報告している¹⁹⁾。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 β 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。さらに、マウスの皮下にヒト腎細胞癌細胞株を用いて形成した腫瘍に IAB-1(pSV2IFN β)を局所注入したところ、重篤な毒性を認めることなく4週間以上にわたり腫瘍増大が抑制されることが確認された¹⁹⁾。なお、使用した細胞株がインターフェロン(IFN)に抵抗性であることより、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の局所投与がインターフェロン抵抗性の腎細胞癌患者の転移巣に対する有効な治療法となりうることが示唆された。一方、正常組織に対する影響に関しては、ヒト腎近位尿細管細胞株(RPTEC5899)に対し IAB-1(pSV2IFN β)処理を行い検討したが、有意なヒト β 型インターフェロンの分泌は認められず、また有意な細胞障害活性も認められなかった¹⁹⁾。なお、これらの培養細胞および動物を用いた実験に使用した IAB-1(pSV2IFN β)は、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であり、使用したプラスミド(pSV2IFN β)では、SV40 early プロモーターの下流にヒト β 型インターフェロン cDNA が配置されている。一方、上述のグリオーマの遺伝子治療および本遺伝子治療で使用するヒト 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[以下、IAB-1(pDRSV-IFN β)と略す]に含まれるプラスミド(pDRSV-IFN β)では、ヒト β 型インターフェロン cDNA はラウス肉腫ウイルス LTR のプロモーターの下流に配置されているが、両者ともに、遺伝子導入された細胞内でヒト β 型インターフェロンを発現する。これらの実験結果より、IAB-1(pDRSV-IFN β)を腎細胞癌患者の転移巣に直接局所投与すれば、腫瘍細胞特異的に遺伝子発現を調節しなくとも、細胞障害活性は腫瘍細胞に対して選択的に起こり、正常細胞に導入されても重篤な障害は生じないと考えられる。また、上述のごとく、名古屋大学医学部附属病院脳神経外科において、グリオーマに対して行われた IAB-1(pDRSV-IFN β)による遺伝子治療でも、IAB-1(pDRSV-IFN β)は癌病巣に直接注入されたのみで、特に腫瘍細胞特異的な遺伝子の発現調節を行っていないが、重大な有害事象は報告されていない。

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もしくはインターロイキンによる免疫療法およびソラフェニブ、スニチニブを含む分子標的治療が無効であった患者または適応でない患者に対する有効な治療法が確立されていないのが現状である。従って、その予後が極めて不良であることを考慮に入れると、これらの患者に対して、上述の如く治療効果と安全性が期待しうる本遺伝子治療を選択することは妥当であると考えられる。

インターフェロンは筋肉注射または皮下注射で投与され、インターロイキンは点滴で経静脈的に投与されるのに対して、本遺伝子治療において、IAB-1(pDRSV-IFN β)は超音波ガイド下または CT ガイド下に穿刺針を用いて転移病巣に直接注入される。

(2) 治療法の開発を目的とした遺伝子標識臨床研究を行う場合

本研究は該当せず。

6. 遺伝子の種類及びその導入方法

(1) 人に導入する遺伝子の構造と性質

本遺伝子治療臨床研究に用いる遺伝子 pDRSV-IFN β の全塩基配列を図 1 に、その遺伝子構成成分とマップを図 2 に示した。ヒト β 型インターフェロン cDNA はラウス肉腫ウイルス LTR のプロモーターの下流に配置されている。導入遺伝子の発現によって生成されるヒト β 型インターフェロンは図 3 に示すように 166 個のアミノ酸よりなる分子量 20,000 のタンパク質である。

(2) 本計画で使用するその他の組み換え DNA の構造と性質

本研究では pDRSV-IFN β 以外の DNA 及びパッケージング細胞は使用しない。

(3) 標的細胞とした細胞の由来及び生物学的特徴並びに当該細胞を標的細胞とした理由

本研究は正電荷リボソームに包埋した遺伝子を腎細胞癌の病巣内へ直接注入して遺伝子導入するものであり、特に取り出した細胞を標的とするものではない。

(4) 遺伝子導入方法の概略及び当該導入法を選択した理由

腎細胞癌細胞への遺伝子導入はヒト β 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ボソームに包埋して行う。これらは本臨床研究の研究分担者である吉田らが開発、製造したもので、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る。本リボソームによる遺伝子導入効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注は、腫瘍細胞への選択的発現という点からも利点を有する。

(5) 遺伝子導入に用いるプラスミドの調製

ヒト β 型インターフェロン cDNA は Taniguchi ら²⁰⁾がクローニングしたものを正式な患与を受けて使用した。患与されたプラスミドを制限酵素 *EcoR* I で消化してえられたヒト β 型インターフェロン構造遺伝子を含む断片をさらに制限酵素 *Hinc* II 及び *Bgl* II で消化した後に、pUC19 に挿入した。このように調製した pUC19 を制限酵素 *Sma* I 及び *Hind* III で消化し

てえられたヒト β 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 *Xba* I 及び *Hind* III 部位に挿入することによりヒト β 型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFN β を構築した(図 4)。さらに、制限酵素 *Bam* HI で消化して約 2kb の不要な断片(大腸菌でのプラスミドの生産のための塩基配列や治療目的以外の塩基配列である F1 ori, PSV40, Neomycin, SV40pA)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 β (3,674bp)を得た(図 4)。

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、臨床应用到十分に耐える純度の導入プラスミドであることが確認されている。なお、純度検定については、以下の規格で行っている。エンドトキシン ≤ 10 EU/mg、DNA 均一性 $>90\%$ 、RNA:検出されず、大腸菌染色体 DNA ≤ 10 μ g/mg、タンパク質 ≤ 10 μ g/mg、A260/280:1.75 - 2.00。

(6) IAB-1 (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)

癌細胞株に対する抗腫瘍効果は、pSV2IFN β を内部に包埋した IAB-1(pSV2IFN β) を用いて、培養細胞や動物を用いた実験で確認された。その後、pDRSV-IFN β の発現効率及び抗腫瘍効果が pSV2IFN β と比較し、同等か高いことが確認できたことからグリオーマの遺伝子治療には後者を内部に包埋した IAB-1(pDRSV-IFN β)が用いられた。なお、ヒトグリオーマ細胞株に対する IAB-1(pDRSV-IFN β)の抗腫瘍効果も、IAB-1(pSV2IFN β)と同様に培養細胞および動物を用いた実験で確認されている。また、遺伝子治療に用いる IAB-1(pDRSV-IFN β)の安全性については、種々の動物を用いて行われており、「8. 安全性についての評価」で、後述する。本遺伝子治療でも、グリオーマの遺伝子治療と同様に pDRSV-IFN β を内部に包埋した IAB-1(pDRSV-IFN β)を用いる。

正電荷リポソームは、規格設定され、品質試験を経た 3 成分 N-(α -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) から作製され、これに 1mg/ml の濃度の pDRSV-IFN β を含む等張リン酸緩衝液を加えてホモジナイズし、得られた懸濁液を孔径 2 μ m のメンブランフィルターを装着したリポナイザーを用いて加圧濾過する。その濾液の遠沈沈殿画分に等張リン酸緩衝液を加えて再分散させ、容器に充填し、密封することにより 40ml の IAB-1(pDRSV-IFN β)が調製される。このようにしてヒト 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が得られる。リポソームの粒子径は 0.5-2.0 μ m である。現在、この製剤は凍結乾燥製剤化されており、1 年以上にわたり保存可能であり、随時、使用に供することができる。

以上のようにして調製された IAB-1 (以下製剤という)の規格を表 1 に示す。製剤の均一性、安定性及び品質の維持保証のため、名古屋大学医学部附属病院では製剤調製に関するガイドラインと諸規約が作成され、遵守されている。製剤の調製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、同センター管理内規で定められた製剤

調製作業員が行う。「浸透圧比、pH、純度試験、ヒト β 型インターフェロン産生量、細胞増殖抑制率、DNA 含量」を対象項目として保存されている凍結乾燥製剤の品質規格試験を行い(表2)、製剤の適合承認はこの品質規格試験の結果に基づいて製剤検証部会が行っている。なお、製剤検証部会は、非臨床試験に使用した IAB-1(pDRSV-IFN β)と名古屋大学医学部附属病院において製造された製剤が同等であることの検証ならびにその品質の評価及び判定を行うために、名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会内に設けられた部会である。プラスミドの規格については米国の遺伝子治療臨床研究に用いられている2社(VICAL社、QIAGEN社)の基準を参考に作成された規格基準によっている。リボソーム製剤の規格は米国などのリポフェクション型リボソームの規格を参考にし、薬発第1062号「遺伝子治療用医薬品の品質及び安全性の確保に関する指針」(平成7年11月15日付)に則して規定した。凍結乾燥製剤の有効期間については、局方基準に従い、3ロットで検討を加え、製造後2年と定めている。本製剤は非ウイルス性遺伝子導入ベクターであり、増殖性ウイ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。後述するように、本製剤の安全性はマウス、ラット、ウサギ、カニクイザルなどにおいて十分に検討され、確認されている。

7. これまでの研究成果と文献的考察

(1) ヒト β 型インターフェロンとその腎細胞癌への効果

ヒト β 型インターフェロンは主として線維芽細胞より産生されるサイトカインであり、分子量20,000、166個のアミノ酸からなるタンパク質である。本インターフェロンは抗ウイルス作用のほか、抗腫瘍細胞増殖抑制作用、免疫賦活作用、抗血管増生作用など多彩な生物学的活性を有する^{5,6)}。しかし、今回の対象疾患である腎細胞癌に対しては、本邦では α 型および γ 型インターフェロンが保険適用となっており、 β 型インターフェロンは適用となっていない。この理由としては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^{3,4)}、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。 β 型インターフェロンの腎細胞癌患者に対する奏効率は1990年前後に報告されているが、約20%前後であり、 α 型インターフェロンとほぼ同等であった^{5,6)}。

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。以上のことを踏まえ、今回我々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であると考えられる。

(2) 遺伝子導入に必要なリポソームの開発とその特性

本リポソームは、膜表面が正に荷電している多重膜構造のリポソームであることが最大の特徴であり¹⁴⁻¹⁷⁾、この点で従来のリポフェクチン法などに用いられるものとは異なる。これによって表面が負に荷電している遺伝子及び細胞との親和性が増し、導入効率の向上と毒性の低下が達成された。なお、本リポソームが細胞表面に接触するとエンドサイトーシスの機序で細胞内へ取り込まれること、リソソームによる破壊は受けにくいこと、遺伝子は主として増殖期の細胞において核内へ移行し、エピゾーマルに発現すること、などが明らかにされている²¹⁾。また、今回用いる多重膜リポソームは一枚膜リポソームに比べ細胞毒性が低く、血清添加下での導入効率の低下も少ないことが示されている¹⁴⁾。本臨床研究は、上述のように本邦の研究者によって開発、改良されたオリジナルなりポソーム製剤を用いるものであり、その点からも価値ある研究とみなされる。

(3) 遺伝子導入によるヒト β 型インターフェロンの発現

ヒト腎癌細胞に対する *in vitro* 遺伝子導入実験において、 5.0×10^4 個のヒト腎細胞癌株 NC65 細胞を 2ml の培養液で 24 時間培養後、 $0.2 \mu\text{g}$ DNA ($0.1 \mu\text{g}$ DNA/ml) を含む IAB-1(pSV2IFN β) で処理し、一定時間後の培養上清中のヒト β 型インターフェロン量を ELISA 法にて測定した。処理 24 時間後には上清中に有意なヒト β 型インターフェロンの分泌が認められた。その値は 48 時間後に最大値 ($34.0 \pm 6.8 \text{IU/ml}$) となり、少なくとも 4 日目まで有意な分泌の持続が確認された。等張リン酸緩衝液 (PBS)、プラスミド DNA を含まない空のリポソーム (empty liposome) で処理した場合には、上清中にヒト β 型インターフェロンの分泌はまったく認められなかった。さらに同じくヒト腎細胞癌株である ACHN 及び本学で樹立した 3 種類の初期腎癌培養細胞 KC1, KC2, KC3 を IAB-1 で処理したところ、全ての細胞株で上清中に有意なヒト β 型インターフェロンの分泌が認められた¹⁹⁾。

この遺伝子発現が一過性であることはヒトグリオーマ培養細胞の系で確認されている。ヌードマウスの脳内移植ヒトグリオーマの系を用いた実験では、IAB-1(pDRSV-IFN β) 注入 3 日後、腫瘍組織内にはヒト β 型インターフェロン mRNA の明らかな発現増強が認められたが、正常組織内への注入では無処理対照組織と同程度の発現しか認められなかった。正常組織に対する影響に関しては、ヒト腎近位尿細管細胞 (RPTEC5899) に対し IAB-1(pSV2IFN β) 処理を行い検討してみたが、有意なヒト β 型インターフェロンの分泌は認められなかった¹⁹⁾。

なお、本臨床研究では遺伝子製剤を複数回癌病巣内に注入する計画である。我々はグリオーマの系で複数回投与により遺伝子発現効率が高まることを確認しており、悪性黒色腫

細胞においても繰り返し投与による発現効率の向上を確認している²²⁾。また、腎細胞癌株に対する *in vivo* 動物実験でも、IAB-1(pSV2IFN β)の単回投与では十分な治療効果は得られず、週3回、2週投与(計6回投与)により、同様の投与スケジュールのヒト β 型インターフェロン蛋白投与に比し、有意な抗腫瘍効果を認めている¹⁹⁾。さらに IAB-1(pSV2IFN β)の週3回、2週投与(計6回投与)と週2回、3週投与(計6回投与)では、その抗腫瘍効果に有意差のないことも確認済みである。

(4) 遺伝子導入により産生されるヒト β 型インターフェロンの抗腫瘍効果

① 培養細胞による検討

ヒト腎細胞癌細胞株である NC65、ACHN および京都府立医科大学泌尿器科学教室にて樹立した腎癌の初期培養細胞 KC1、KC2、KC3 につき、それぞれ 5.0×10^4 個の細胞を各ウェルに入れ、24時間培養後、IAB-1(pSV2IFN β)を添加し、4日後の細胞障害活性を計測した。細胞障害活性は NC65: $94.7 \pm 1.9\%$ 、ACHN: $92.3 \pm 6.9\%$ 、KC1: $89.6 \pm 3.3\%$ 、KC2: $98.7 \pm 0.23\%$ 、KC3: $90.3 \pm 2.1\%$ と非常に強く、この値はヒト β 型インターフェロン蛋白 1,000IU/ml 処理に比し、有意に高値であった。一方、代表的な前立腺癌細胞株 LNCaP・PC-3、膀胱癌細胞株 T24・J82 に対する IAB-1(pSV2IFN β)の細胞障害活性は腎癌と比較して低値であり、LNCaP: $39.2 \pm 9.5\%$ 、PC-3: $49.1 \pm 11.5\%$ 、J82: $64.6 \pm 7.8\%$ 、T24: $19.0 \pm 2.0\%$ であった。さらに、ヒト腎近位尿管細胞(RPTEC5899)に対し IAB-1(pSV2IFN β)処理を行い検討してみたが、明らかな細胞障害活性を認めなかった。また、NC65細胞においてヒト β 型インターフェロン蛋白 1,000IU/ml 処理では誘導できないアポトーシスが、IAB-1添加により高率に誘導された¹⁹⁾。

ヒト β 型インターフェロン蛋白処理は増殖期の腫瘍細胞の増殖を抑制するとともに、静止期の細胞が増殖期へ入るのを抑制しているものと考えられる。腫瘍内の増殖期細胞のポピュレーションは腫瘍毎にかなり異なるが、たとえばグリオーマでは増殖期細胞が約30%、静止期細胞が約70%と見積もられており、個体差はあるものの腎細胞癌においては、通常この値よりは低値であると考えられる²³⁾。したがって、直接的な抗腫瘍効果に関しては cytostatic な効果が主体であるヒト β 型インターフェロン蛋白のみの投与による治療の効果には限界があるといえる。既述したように、ヒト腎癌細胞株の系においては IAB-1(pSV2IFN β)によるヒト β 型インターフェロン遺伝子の導入により高率に腫瘍細胞にアポトーシスが認められ、殺細胞効果があることを我々は確認している。これらのことから、本遺伝子治療が静細胞的のみではなく殺細胞的にも作用し、少なくとも今回検討した範囲では、癌細胞の中でも腎細胞癌にかなり選択的に作用する可能性が示唆された¹⁹⁾。

また、本遺伝子治療によってヒト β 型インターフェロンが一定期間持続的かつ高濃度に腫瘍結節局所で産生されるので、これが病巣内の遺伝子導入されなかった腫瘍細胞にも作用し、増殖抑制効果を示すと考えられる。以上のような理由により、本遺伝子治療はヒト β 型インターフェロン蛋白投与と比べても、抗腫瘍効果が期待できるので、臨床効果が望めるものと予測

される。

② マウス移植腎細胞癌での検討

SCID マウス 皮下移植 NC65 腫瘍に対し IAB-1(pSV2IFN β)によるヒト β 型インターフェロン遺伝子導入を試みたところ、治療開始後 30 日目で有意な増殖抑制効果を認めた。ヒト β 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 empty liposome 投与と同様に、有意な増殖抑制効果は認められなかった¹⁹⁾。

8. 安全性についての評価

(1) 遺伝子導入方法の安全性

本臨床研究に用いる正電荷リポソームの毒性については、各種の細胞において $10\ \mu\text{M}$ 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(資料 1)。動物に投与した際の生体内分布とその時間的推移については、IAB-1(pDRSV-IFN β)をマウスの脳内に投与した後に、各臓器への移行について検討を行っている(資料 2)。本臨床研究で腫瘍内に投与する約 1-10 倍のプラスミドが投与されているが、1週間後には、脳以外の臓器では、脾臓、血液、肝臓、精巣、肺の順にプラスミドが検出されており、1ヶ月後の結果からは、通常の臨床用量の投与であれば脳以外の臓器では検出感度以下と考えられる。精巣においても、1ヶ月以降では、プラスミドは検出されておらず、長期間の残存の可能性はないと推測される。さらに、上記の 50 倍の IAB-1(pDRSV-IFN β)をマウスに静脈投与した際の体内分布について検討を行っている(資料 2-2)。 $6\ \mu\text{g}$ (約 3×10^{10} 個プラスミド/ μl)の pDRSV-IFN β を $50\ \mu\text{l}$ の pDRSV-IFN β をマウスに静脈内投与した 1週間後には、脾臓、精巣、肺、心臓、肝臓、腎臓、血液の順にプラスミド DNA 各組織内に検出されているが、その組織内濃度は、約 6×10^2 - 9×10^4 個プラスミド/mg(組織)となっていた。体重あたりの投与量で比較すると、マウスに静脈内投与したプラスミドは本臨床研究で腫瘍内に投与するプラスミドの約 50-400 倍であることより、本臨床研究の使用量に相当するプラスミドをマウスに静脈内投与すれば、1週間後の各組織内のプラスミド濃度は約 1.2×10 - 1.8×10^3 個プラスミド/mg(組織)もしくはそれ以下と推測されるが、これは上述のマウス脳内投与の場合の 1週間後の脳以外の組織内のプラスミド濃度と同等もしくはより少ないことになる。さらに、1ヶ月以降では、脳内投与の場合と同様にさらに減少することが推測される。以上より、万が一、腫瘍内に局所注入した IAB-1 の一部が、血管内に入ったとしても、各臓器にプラスミドが持続的に残存する可能性は低いと考えられる。また、本臨床研究で用いる IAB-1(pDRSV-IFN β)と同じ遺伝子治療製剤を用いた臨床研究が、すでに名古屋大学においてグリオーマに対して、信州大学において悪性黒色腫に対して行なわれ、ともに腫瘍内に局所注入されている。名古屋大学のグリオーマ患者 5 名の血中、尿中には遺伝子製剤投与後にプラスミド DNA を検出しなかった。信州大学の悪性黒色腫患者 5 名の内、1 名

のみで遺伝子製剤投与後 2 日目に一過性にプラスミド DNA が血中で確認されたが、その後速やかに消失している。残りの 4 名では、遺伝子製剤投与後血中にプラスミド DNA を検出しなかった。また、この 5 名の尿中には、遺伝子製剤投与後にプラスミド DNA を検出しなかった。本臨床研究に用いる遺伝子治療製剤 IAB-1(pDRSV-IFN β) は無菌性で、エンドトキシン量は 10EU/mg 以下であることが確認されている。後述のようにラット、カニクイザルでの静脈内投与毒性試験も実施しており、実際の臨床研究において、腎癌病巣内に投与された本製剤が血中に入ったとしても、また、周囲組織へ漏出したとしても、その投与量から考えて、副作用の懸念は低い。また、正常腎上皮細胞に対する *in vitro* 実験¹⁹⁾から考えても、正常細胞にはほとんど影響を及ぼさないとと思われる。さらに、実際の投与においては、転移巣に対し、超音波あるいは CT ガイド下に、腎細胞癌の腫瘍病巣内に IAB-1(pDRSV-IFN β)の局所注入を行うが、その手技は日常診療においてすでに確立されており、厳重な清潔操作で行うので、重篤な合併症や細菌感染の可能性は低いと考えられる。

実際、上記の名古屋大学および信州大学における遺伝子治療製剤 IAB-1 を用いた臨床研究においても、特に問題となる副作用は認められていない。

IAB-1(pDRSV-IFN β)の安全性については、「医薬品の安全性試験に関する非臨床試験の実施に関する基準」(平成 9 年 3 月 26 日、厚生省令第 21 号)、及び「単回及び反復投与毒性試験ガイドラインの改正について」(平成 5 年 8 月 10 日、薬新薬第 88 号)等に準拠して、ラット及びカニクイザルの単回脳内及び静脈内投与毒性試験、ラット及びカニクイザルの 1ヵ月間反復脳内投与毒性試験、変異原性試験(復帰突然変異、染色体異常、小核)、ラットの生殖・発生毒性試験、発熱性物質試験及びエンドトキシン試験を行い、安全性が確認されている。特に静脈内投与および脳内投与による IAB-1(pDRSV-IFN β)および正電荷リポソームの実験動物における有害反応、毒性試験はラットとカニクイザルを用いて検討されている。このうち静脈内投与の実験結果を以下に記す。

- 1) IAB-1 のラットにおける単回静脈内投与毒性試験では pDRSV-IFN β 100、300、1000 μ g/kg の IAB-1 の投与にて投与翌日にのみ 300 μ g/kg 以上投与の群で摂食減少、体重増加抑制が認められたが、2 日目以後は対照群との間に差異はみられなかった。血液検査にて 100 μ g/kg 以上投与の群で白血球増加が、1000 μ g/kg の群で分葉核好中球の増加と血小板減少が認められたが、一過性であった。臓器重量については 1000 μ g/kg 投与群で脾臓の重量増加がみられたが、組織学的には異常を認めなかった。正電荷リポソームのみの投与群では何らの変化も認められなかった。以上より、IAB-1 のラットにおける概略致死量は DNA 量として 1000 μ g/kg 以上であると推定される。
- 2) IAB-1 のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験では pDRSV-IFN β 30、100、300 μ g/kg の IAB-1 を投与し、2 週間観察後に剖検し、各臓器の変化を検索した。300 μ g/kg 群の 2 匹中 1 匹でリンパ節腫大と脾臓の重量増加が認められたが、組織学的には異常は観察されなかった。その他、IAB-1 投与によるとみなされる異常は認められなかつ

た。また、正電荷リポソーム投与群には何らの異常所見も見出されなかった。これから、カニクイザルにおける IAB-1 の致死量は pDRSV-IFN β 300 μ g/kg 以上であると推定された。

3) IAB-1 の無毒性量については、カニクイザルへの静脈内投与及びラットでの着床障害(雄には 8 週間、雌には 4 週間投与)等の試験結果より、DNA 量として雄で 10 μ g/kg、雌で 100 μ g/kg と判断された。なお、ラット静脈内投与試験では、100 μ g/kg 投与群の 6 匹中 1 匹の精巣で軽度の精子形成低下を認めたが、1000 μ g/kg 投与群では、精巣に異常所見を認めず、精巣および卵巣の病理組織学的検査では、両者ともに特記すべき所見を認めなかった。これを基準に体重 60kg のヒトに換算すると、男性で 1 回につき 600 μ g までは安全であり、女性ではそれ以上の量の pDRSV-IFN β を反復投与しても安全性に問題がないものとみなされる。また DNA の累積総投与量の安全限界については、同じくラットでの静脈内投与試験の結果(雄では 10 μ g/kg を連日 8 週間投与までの、雌で 100 μ g/kg を連日 11 日間投与までの安全性が確認されている)から換算し、体重 60kg の男性で 33.6mg となり、50kg の女性で 55mg と算出される。本臨床研究における 1 回投与量は最大 250 μ g であり、3 コース施行した場合でも総投与量は 4.5mg 以下であり、いずれも上記限界量よりはるかに低く(男性で限界量の 14%、女性で 9%以下)、総投与量に関しては問題ないものと考えられる。1 回の投与量上限もラットの実験結果より換算すると 60kg のヒトで 600 μ g となり、本臨床研究の 1 回投与量上限(250 μ g)は、その約 40%に相当することより、無毒性量の算出根拠とした。さらに、本遺伝子治療で規定する最大量(250 μ g/回)を 1 コース(合計 6 回)使用すると計 1.5mg 使用することになるが、これは、上述 2)の IAB-1 のカニクイザルにおける単回静脈内投与毒性試験の結果(IAB-1 の致死量:pDRSV-IFN β 300 μ g/kg 以上)より推測される 60kg のヒトの致死量 18mg の 10%未満にすぎないことより、反復投与のデータではないものの無毒性量の算出の根拠として用いられると推測される。

4) 本臨床研究では腎細胞癌のリンパ節あるいは他臓器転移巣に最大 1 回使用総 DNA 量 250 μ g を上限として、週 1 回、6 週間、計 6 回注入する予定である。この投与量の根拠は、1)カニクイザルなどでのデータから体重当たりで IAB-1 の無毒性量をヒトに換算すると 1 回当たり 10 μ g/kg となるので、その 1/2 の 5 μ g/kg を 1 回投与の絶対安全量とすると、50kg の患者では 1 回当たりの投与可能 DNA 総量は 250 μ g となる。2)米国を中心に実施されている liposome-DNA complex を用いた臨床研究のプロトコールのほとんどが 10~250 μ g の DNA を用いている。最近、1 回最大使用量を 1,500 μ g および 4,000 μ g としたプロトコールも実施されたが、重篤な副作用は確認されなかった^{24) 29)}。3)同型の IAB-1 を使用する信州大学での悪性黒色腫に対する遺伝子治療のプロトコールでは、週 3 回、2 週間、計 6 回注入する方法をとっており、名古屋大学でのグリオーマに対する遺伝子治療のプロトコールでは、週 2 回、最大 6 回注入する方法をとっていることなどが挙げられる。一般に腎細胞癌は悪性黒色腫に比し、発育が緩徐な場合がほとんどであり、かつ悪性黒色腫に比し、手技的に IAB-1 の注入が比較的困難な部位が多いと考えられる。また、我々の検討によりヒト腎細胞

癌株に対する *in vivo* 実験で週 3 回 2 週投与と、週 2 回 3 週投与では、治療効果に有意差が認められないことも確認できている²⁵⁾。さらに、最近米国で、類似の方法で腎細胞癌の転移巣に非ウィルスベクターを用いて、インターロイキン 2 遺伝子を導入する臨床研究が実施され、この研究では週 1 回、6 週間、計 6 回注入する方法をとっている。さらに、この方法の効果と安全性は論文として報告されている^{24, 26)}。これらのことから遺伝子治療の実施回数は週 1 回 6 週投与とし、1 コースの治療回数を 6 回とした。本臨床研究では、1 回最大投与量を腫瘍体積と同容積もしくは、最大 1 回使用総 DNA 量 250 μg を上限としたが、これは、信州大学の 1 回あたり最大投与量 150 μg 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 μg DNA、最大総投与量 180 μg DNA を上回る投与量である。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 μl])内に、30 μg の DNA を注入(0.34 μg DNA/ μl 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 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とした。また、上述のとおり名古屋大学および信州大学においては、腫瘍の種類は異なるものの本遺伝子治療と同じ製剤を用いて同様に腫瘍内投与を行い安全性が確認されている。この実績にもとづき、本臨床研究ではより多い用量の製剤を用いた安全性と有効性を検討することとした。

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(pSV2IFN β)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 β 型インターフェロンの分泌は認められなかった¹⁹⁾。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。本リポソームおよび pDRSV-IFN β の免疫原性についてはラット、ウサギ、サル等で検討され、きわめて低いことが確認されている。また、癌原性については、50 匹のマウスを用いて最短 24 日間、最長 6 ヶ月間以上の観察が行われたが、発癌はまったく認められなかった。なお、通常の観血的処置の際にとる感染予防を行う限りでは、本臨床研究において患者以外の人に遺伝子が導入される危険性はないと考えられる。

(2) 遺伝子産物の安全性

本邦においては、ヒト β 型インターフェロン蛋白は腎細胞癌に対して保険適用がなく、したがって使用実績もほとんどない。しかし、保険適用のある悪性黒色腫の患者に対しては、一日量 300x10⁴IU のヒト β 型インターフェロンを 5~10 日間の皮内ないし皮下投与を数週から数ヶ月間

隔で長期間にわたって繰り返す術後補助療法が数多く行われてきている。この治療法では有害反応として、ときに発熱、頭痛・倦怠感、骨髄抑制、肝機能障害などがみられるものの、重篤なものほとんどないことが明らかにされている。しかも、培養細胞株の実験結果より、本遺伝子治療におけるヒト β 型インターフェロンは腫瘍細胞で発現し、正常細胞ではほとんど発現しないと推定されることから、遺伝子産物による有害反応が問題になる可能性は低く、安全性が問題になることはないと考えられる。

9. 遺伝子治療臨床研究の実施が可能であると判断した理由

前項で記載したように、遺伝子治療製剤 IAB-1(pDRSV-IFN β)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、その設備および技術は名古屋大学、京都府立医科大学共に十分備わっている。

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(河内、沖原、高羽、三神、中村)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、腎細胞癌に対する助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。また、共同研究者の吉田、若林、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、*in vitro*、*in vivo* 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見出している。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。

10. 遺伝子治療臨床研究の実施計画

(1) 遺伝子治療臨床研究を含む全体の治療計画

本臨床研究に用いるプラスミドとリポソームの生産、調製は、共同研究者である名古屋大学医学部附属病院の医師と京都府立医科大学附属病院の医師が、名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにて行い、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翌日までには京都府立医科大学附属病院へ輸送し、同院の薬剤部の管理のもとに専用の冷蔵庫(4℃)内に保管し、施錠する。薬剤部の担当者はその鍵を管理し、薬剤の出入量を記帳、確認する。また、名古屋大学から京都府立医科大学へ運搬する毎に薬剤の外観と輸送中の温度記録をチェックする。さらに運搬後、製剤の一部を用いて *in vitro* で培養ヒトグリオーマ細胞株(U251SP)と腎細胞癌細胞株(NC65等)に作用させ、2日後、4日後の培養上清を採取し、上清中に産出されるヒトβ型インターフェロン量を株式会社BMLにおいてEIA法にて定量する。2日後のヒトグリオーマ細胞株(U251SP)の細胞上清を採取し、上清中に産出されるヒトβ型インターフェロンが150国際単位/ml以上である場合、適合と判断する。このようにして運搬後のIAB-1凍結乾燥製剤が、ヒトβ型インターフェロン産生能を維持していることを検証し、品質が保持されていることを確認した上で臨床研究に用いる。上記は、名古屋大学脳神経外科において開発され、悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究に用いられた遺伝子製剤と同等の凍結乾燥製剤を京都府立医科大学へ輸送して本臨床研究に用いるものであり、この輸送および使用方法は既に厚生労働省の認可の上、信州大学において悪性黒色腫に対して実施されたものと同一方式である。

(2) 被験者の選択基準及び除外基準

選択基準

- 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[資料3]もしくは術後に転移を認めた場合)。
- ② 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。
- 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。
- 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を含む免疫療法およびスニチニブ、ソラフェニブなどによる分子標的治療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(資料4)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年間は確実なバリア型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、担当医の判断で不相当と見なされた患者。

(3) 被験者の同意の取得方法

担当医師は本臨床研究の実施に際し、臨床研究開始前に対象者に対し口頭と文書にて十分説明し、臨床研究に参加することについて、本人の自由意志による同意であることを確認し、同意書に本人の署名(自署)又は捺印を得る。なお、この説明には患者親族もしくは理解補助者の同席を必要とし、その署名(自署)又は捺印を得る。ただし、患者親族もしくは理解補助者の同席が得られない場合は、これに準じる立会人の同席をもって替えることとし、その署名(自署)又は捺印を得る。その説明をした担当医師は説明書の所定の欄に署名(自署)又は捺印し、同意取得年月日を症例記録用紙に記載し、その書類の原本を保管する。さらにその書類を複写して、対象者に手渡す。

(4) 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

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。)(資料 5-1)が設置されている。さらに、被験者の適応性の判断、治療の有効性及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。)(資料 5-2)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(資料 5-3)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。

(5) 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 2 年間を予定する。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。本治療法の臨床研究は 5 症例を予定する。さらに個々の症例については、治療開始後、原則 1 年間の経過観察期間を置く。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 3 年間とする。

(6) 遺伝子治療臨床研究の実施方法

① 対照群の設定方法

本学における historical control を用いる。

② 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。肺、肝、リンパ節の転移病巣を主な対象病変とするが、複数回の穿刺が安全にできる部位であれば、深部の病変も治療対象とする。遺伝子治療製剤注入針の穿刺は、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 ガイド下にて行う。リン酸緩衝液 1ml 中に 30 μ gDNA を含有する製剤を注入する。腫瘍あたりの製剤注入量は、腫瘍体積[長径cm \times (短径cm)² \times 0.5(ml)]と同容積とし、1回当たりの注入最大 DNA 総量は 250 μ g (8.3ml) とする。なお、治療対象とする総腫瘍体積の上限を 8.3ml とする。超音波あるいは CT ガイド下穿刺用の穿刺針を用いて穿刺し、微量注入ポンプを用いて注入する。注入は週 1 回、合計 6 回を予定する。ただし、第1例目の 1 回目治療では投与量を 30 μ gDNA 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 する。各症例について投与開始から 7 週後と 11 週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 13 週後に安全性(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・承認する。1 コースは遺伝子治療 6 週間、経過観察期間 5 週間の計 11 週間とする。その結果、開始より 11 週間の期間に Grade 3 以上の有害反応が認められず、かつ 11 週目の画像的評価において IAB-1 を注入した病巣の一つ以上で SD(安定)もしくは PR(有効)以上の反応が認められた場合は、開始より 13 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、総括責任者の判断で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 13 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、腫瘍体積と同容積とし、1 回当たりに注入する DNA 総量の上限を 250 μ g 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 13 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。

なお、本遺伝子治療を実施中に中枢神経系への転移が確認された場合は、速やかに脳神経外科および放射線科などと協議し、ガンマナイフおよびサイバーナイフなどの放射線治療もしくは手術などの中枢神経系転移に対する治療を検討する。中枢神経系転移の状態および全身状態より判断し、可能であれば本遺伝子治療を継続するが、継続困難な場合には本遺伝子治療を中止し、中枢神経系転移の治療を開始する。いずれの場合も、患者に病状を説明し了承を得ることとする。また、本遺伝子治療完了後、経過観察中にいくつかの病変が進行した場合には、患者に説明し了承を得た上で他の治療へ変更する。

いずれの時点においても、Grade 3 以上の有害反応を認めた場合には、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することとし、総括責任者の判断のもとで継続の可否を決定できるものとする。Grade 4 の有害反応がみられたら、直ちに全症例の遺伝子治療を中止する。

③ 前処置及び併用療法の有無

遺伝子導入用の穿刺針による皮膚穿刺の際の疼痛軽減のために、1%キシロカイン® 溶液を使用する。1 穿刺部位に対し最大 10ml を使用し、穿刺部位が複数箇所になる場合も、1 回の治療における総使用量が 20ml を超えないようにする。その他の特別な前処置は実施しない。また、併用療法は実施しない。

④ 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 6 週間は週 1 回、それ以降 11 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 7 週目と 11 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、④-5) で示す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 β 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。
- 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: 治療前後の病巣の組織学的変化と病巣への免疫担当細胞の浸潤をヘマトキシリン・エオジン染色で評価する。
- ・ 免疫染色: 免疫細胞(リンパ球、マクロファージ、NK 細胞)を各表面抗原の免疫染色で同定し、腫瘍局所への誘導について評価する。また、腫瘍細胞のアポトーシスについて TUNEL 法で評価する。
- ・ 遺伝子発現: RT-PCR を用いて組織内における IFN- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 の mRNA の発現につき測定する。

(2) 血液

- ・ PCR(plasmid DNA): 病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β の有無を PCR で評価する。
- ・ CD4/8: 血中リンパ球サブセットをフローサイトメトリーで測定する。
- ・ 抗プラスミド抗体: 病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β に対する抗体を EIA(enzymeimmunoassay)で測定
- ・ サイトカインアッセイ: IFN- β , TNF- α , IFN- γ , IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-6 の血中レベルを EIA(enzymeimmunoassay)で測定

(3) 尿

- ・ PCR(plasmid DNA): 病巣に注入した IAB-1 に含まれているプラスミド pDRSV-IFN β の有無を PCR で評価する。

組織採取は 1 回目および 6 回目の遺伝子治療製剤注入前に、注入予定部位の針生検によって行う。同手技では十分な組織量が得られない可能性もあるので、この中でも特に、①ヒト β 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 β 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。検体は適宜 4℃、-20℃、-80℃の冷蔵庫あるいは冷凍庫、超低温槽に保存する。解析は京都府立医科大学附属病院泌尿器科、

名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにて実施する。なお、遺伝子解析については説明書、承諾書を用いてインフォームド・コンセントを行い、病院内の関係委員会の承認を得た上で施行するものとする。

治療および観察項目のスケジュール表を次に示す。

(別表) 治療および観察項目のスケジュール

項目	投与前 週 以内	1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目	
		第1週 Day1 治療前	Day1 治療後	第2週 Day8 治療前	Day8 治療後	第3週 Day15 治療前	Day15 治療後	第4週 Day22 治療前	Day22 治療後	第5週 Day29 治療前	Day29 治療後	第6週 Day36 治療前	Day36 治療後
同意取得	○												
皮膚テスト	○												
腫瘍標の測定	○	○		○		○		○		○		○	
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7週 Day43	第8週 Day50	第9週 Day57	第10週 Day64	第11週 Day71
同意取得					
皮膚テスト					
腫瘍標の測定	○	○	○	○	○
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1週とする)
(入院は原則として1週間必要)

項目	第15~55週 第(4n+3)週 (n=3~13) (1回/4週)
腫瘍標の測定	○
血液検査	○
尿検査	○
安全性の評価	○

⑤ 予想される副作用及びその対処方法

腎細胞癌は血管に富み腫瘍内穿刺に際し出血を来すことがあるので、止血処置などにて適切に対処する。発熱、感染、肝機能障害などが起こった場合にはそれぞれの症状に対してインドメサシン坐薬、抗生物質、肝庇護剤などを投与することで対応する。局所麻酔薬としてキシロカイン[®]を使用することから、本薬剤に対するアレルギー反応等の発生する可能性も否定できない。この場合もそれぞれの症状に対して最善と考えられる治療を実施する。

⑥ 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

原則的に有効性は治療開始から 11 週後の時点で局注を行った腫瘍の縮小率、非局注病巣の変化などの所見によって判定する。判定は、資料 6 の RECIST guideline に沿って判定し、資料 7 の腎癌取り扱い規約 第 3 版の評価基準も併記する。また、その後も原則として 4 週毎の有効性と安全性の評価を治療開始後少なくとも 1 年間は継続する。

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。とくに遺伝子治療実施中は血液、尿検査は週 2 回定期的に施行し、異常値が出現したら慎重に評価し、とくに 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するものとし、総括責任者の判断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 7 週以降も 11 週まで毎週定期的に実施し、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

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、個別別評価を行う。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」(資料 7)および米国の National Cancer Institute (NCI) が提示している RECIST (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors; 資料 6) に準じて、著効、有効、安定、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。病変部の測定を行い、腎癌取り扱い規約に基づき1方向測定および2方向測定による効果判定を行い、さらに RECIST に基づき病変部の最長径の和により効果判定を行う。両方の基準による効果判定を記録することとする。なお、11 週間目の効果判定の際には、いずれかの判定で SD (安定)もしくは PR(有効)以上であった場合は、13 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、総括責任者の判断で本遺伝子治療をさらに2コース追加できるものとする。

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。

② second endpoint

- a) 遺伝子治療製剤が最初に投与された日からの生存期間
- b) PS(資料4)の変化

3) 有害反応の判定

毒性の種類、程度、出現時期、持続期間などにつき、CTCAE (Common Terminology Criteria for Adverse Events) version 3.0(資料8)に基づいて判定、記載する。

4) 中止判定基準

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。
 - 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

なお重篤な有害事象(副作用に関しては Grade 4 以上)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、その重篤さの程度の検討と中止すべきか否かの審査を依頼する。

2. 治療開始後7週目と11週目の主治医による評価と13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。
3. 患者が拒否した場合。

⑦ 症例記録に関する記録用紙等の様式(別添資料)

⑧ 記録の保存及び成績の公表の方法

本臨床研究に関する記載のすべては、治療中においては、総括責任者が病院内にて管理し、終了後は症例毎に、総括責任者が保存する。保存期間に関しては、本臨床研究の特殊性に鑑み、10年間とする。1コース終了の4週間後に、病院長及び遺伝子治療審査委員会審査委員長にその結果を報告し、遺伝子治療審査委員会審査委員長が必要性を認めた場合には、随時遺伝子治療審査委員会にて審議する。また、本臨床研究実施期間中は本臨床研究に対する遺伝子治療審査委員会を6ヶ月毎に実施し、その継続の可否についても検討する。3年間の遺伝子治療実施期間終了後あるいは、期間中であっても審査委員会にて本臨床研究の中止が決定された場合には、速やかに病院長より、厚生労働省及び文部科学省に報告する。なお、その間の患者やその家族のプライバシーに関してはこれを厳守する。

(7) 本臨床研究における個人情報保護

① 個人情報保護における責務

京都府立医科大学附属病院は、京都府個人情報保護条例に基づき、京都府立医科大学附属病院が保有する個人情報についての保護・管理を行っている。病院長は京都府立医科大学附属病院の個人情報保護体制の最高責任者であり、個人情報保護管理の徹底を行っている。よって本臨床研究に関する個人情報保護に関する措置に関し、適正な実施を確保するために必要があると認めるときは、本臨床研究の総括責任者に対して、適宜必要な措置をとることができる。

② 個人情報の取得と利用に関する制限

1) 診療・教育機関としての京都府立医科大学附属病院における個人情報の一般的な取り扱い

京都府立医科大学附属病院は診療・教育機関として、臨床医学の発展と次世代を担う医療人の育成という社会的な使命の実現に向けて、一般的な診療行為・教育に関する以下に挙げる目的に限り、患者様の個人情報を使用する。この使用に関しては、京都府個人情報保護条例と倫理指針等を遵守した上で取り扱われる。また、京都府立医科大学附属病院を受診する患者様には「患者様の個人情報の保護に関するお知らせ」を用いて京都府立医科大学附属病院で使用する個人情報の使用目的について理解と協力を求めている。

(1) 京都府立医科大学附属病院での利用

- ・ 被験者が受ける医療サービス
- ・ 医療保険事務
- ・ 被験者に関する管理運營業務

(入退院等の病棟管理、会計・経理、医療事故の報告、医療サービスの向上)

- ・ 医療サービスや業務の維持・改善のための基礎資料
- (2) 京都府立医科大学附属病院および京都府立医科大学での医学教育における利用
 - ・ 医学・歯学・薬学・保健学系等の教育(ベッドサイドティーチングなど病院内での診療等に関わる医学教育に限る)
 - ・ 教職員の研修(研修医や新任看護師等への病院内研修、および医療サービス等、前項(1)に関わる病院事務系職員の研修等に限る)
 - ・ 研究活動(遺伝子治療臨床研究を含め、実施に関する法令や倫理指針、関係団体等のガイドライン等が定められている場合には、それを遵守する)
- (3) 他の事業者等への情報提供
 - ・ 他の病院、診療所、助産所、薬局、訪問看護ステーション、介護サービス事業者等との医療サービス等に関する連携
 - ・ 他の医療機関等からの医療サービスに関しての照会への回答
 - ・ 被験者の診療等にあたり外部の医師等の意見・助言を求める場合
 - ・ 検体検査業務の委託その他の業務委託
 - ・ 被験者の家族等への診療に関わる説明
 - ・ 医療保険事務(保険事務の委託、審査支払機関への提出)
 - ・ 審査支払機関または保険者からの照会への回答
 - ・ 関係法令等に基づく届出および報告書
 - ・ 関係法令に基づいて事業者等からの委託を受けて健康診断を行った場合の事業者等へのその結果の通知
 - ・ 医師賠償責任保険等に関わる医療に関する専門の団体、保険会社等への相談または届出等
 - ・ 医療上の安全に関わる行政機関または医療に関する専門の団体等への届出簿
 - ・ 医学・歯学・薬学・保健学等の教育機関への提出
 - ・ 他の医療機関等との医学の発展を目的とした共同研究活動
 - ・ 外部監査機関への情報提供

2) その他の本臨床研究の遂行に必要な被験者の個人情報の利用・取り扱い

上記の診療・教育機関としての京都府立医科大学附属病院における個人情報の一般的な取り扱いに加え、本臨床研究の遂行における個人情報の利用・取り扱いについては、総括責任者はあらかじめ被験者の個人情報の利用目的を公表している場合を除き、速やかに、その利用目的を被験者に通知し、または公表しなければならない。

本臨床研究で扱う被験者の診療記録をはじめとする個人情報は、主として病状経過観察、本臨床研究の緊急事態発生のための連絡など、被験者の生命を守るために用いる。その他の特別の目的で使用する場合は、事前に被験者および家族(あるいは親族)に再度説明し了承を得てから使用する。

また、本臨床研究の成果検討時や医療向上のためなどを目的に試験成績などを公表・公開する場合は、個人を特定できない形すなわち個人情報保護して公開する。これらのことは、被験者及び家族(あるいは親族)への同意説明文書中に記載し、被験者の個人情報の保護及び使用目的について通知し同意を得る。

被験者及び家族(あるいは親族)の同意取得は、自由意志によるものであり、臨床研究に参加しない場合であっても被験者に不利益はない。このことは医学研究を行ううえで大切な倫理であるため、本臨床研究では、これらのことを同意説明文書中に記載し、被験者及び家族(あるいは親族)へ通知している。

総括責任者は利用目的の達成に必要な範囲内において、個人情報を正確かつ最新の内容に保つよう努めなければならない。

③ 個人情報保護に関する安全管理措置

京都府立医科大学附属病院病院長は京都府個人情報保護条例に従い、個人情報の保護に関して、組織的に安全管理措置を実施し、個人情報の漏洩、滅失または棄損の防止に対する措置を講じている。一方で個人情報の漏洩等に関わる新しい犯罪手法などが急速な勢いで多様化していることを鑑み、本臨床研究では規程等の柔軟な運用をもって、個別に適切な対応を行う。

さらに本臨床研究では、死者に関する個人情報が死者の人としての尊厳や遺族の感情および遺伝情報が血縁者と共通していることを鑑み、生存する個人と同様に死者に関する個人情報に関しても同様の管理下で取り扱うものとする。

④ 第三者提供の制限

総括責任者は、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九で掲げる内容に従い、あらかじめ被験者等の同意を得ないで個人情報を第三者に提供してはならない。本遺伝子治療に対する病院内の遺伝子治療審査委員会、厚生労働省・文部科学省審査委員会および同省の担当者への情報開示に関しては、あらかじめ患者向けの説明文書の中で説明を実施し、同意を取得しておく。他の第三者への個人情報の提供を行う場合には、適切な目的であることを確認し、遺伝子治療臨床研究の指針第六章第九に従い、その旨を被験者等へ通知する。

⑤ 個人情報の開示、訂正、利用停止等

総括責任者は、保有する個人情報に関し、次に掲げる事項について、被験者等の知りうる状態にしなければならない。

- 1) 臨床研究実施機関の名称
- 2) 個人情報の利用目的
- 3) 個人情報の開示、訂正、利用停止等に関する手続き
- 4) 苦情の申し出先

本臨床研究に関しては 1)、2)、4)について、同意説明文書に明記した。また、3)について

は、それらの手続きができることを同意説明文書に明記し、その申し出に応じて、手続きの詳細を京都府個人情報保護条例に従い被験者および家族(あるいは親族)に説明する。

総括責任者は被験者等から当該被験者が識別されうる保有する個人情報についての開示、訂正、利用停止等について、京都府個人情報保護条例に従い求めがあった場合には、遅滞なく必要な対応を行うほか、対応結果について被験者等に通知しなければならない。

さらに京都府立医科大学附属病院では個人情報に関する苦情などの窓口を設置し、被験者からの苦情や問い合わせに対して迅速に対応できるような体制を整えている。

【個人情報に関する苦情等の窓口】

京都府立医科大学附属病院総務調整係 患者様相談窓口

TEL: 075-251-5233

(8) 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の書式等は資料9～11に記載>

(9) 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。

11. 腎細胞癌の遺伝子治療に関する国内外の研究状況

(1) 腎細胞癌に対する各種遺伝子治療の現状

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(*ex vivo*法)、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、腎細胞癌患者へ移入する最初の腎細胞癌に対する遺伝子治療を行っている。彼らの報告によると、18人に対し実施し、1例でPR(奏効率6%)を認めている。また、遺伝子治療に伴う重篤な副作用は認めていない²⁷⁾。さらに、同形態の遺伝子治療は国際共同研究の一環としてTaniらにより1999年より日本でも東京大学医科学研究所附属病院にて実施されている²⁸⁾。その際にも重篤な副作用は報告されていない。

症例数	4例	18例	31例
治療薬	GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞	GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞	Leuvectin
ベクター	レトロウィルス	レトロウィルス	プラスミド包埋正電荷リボソーム
遺伝子	GM-CSF	GM-CSF(+) <i>vs</i> (-)二重盲目無作為試験	Interleukin-2
用法・用量	皮下注射 総投与回数 6-17回(平均 12回) 総接種細胞数 1.4-3.7x10 ⁸ 個 (平均 2.6x10 ⁸ 個)	皮下注射および皮下注射 総接種細胞数 (4x10 ⁶ 個、4x10 ⁷ 個、4x10 ⁸ 個)	CT/超音波ガイド下腫瘍内局所注入 1回投与量 [0.75mg (5例)、 1mg(18例)、1.5mg(3例)、4mg(5例)] 1回/週、6回/cycle(4cycleまで)
副作用	発熱 2例(軽度:37度台前半) 接種局所 4例: [発赤、腫脹、硬結(軽度)]	便秘 1例(Grade2:2回、Grade1:1回) 掻痒 4例 蕁麻疹 2例 深部静脈血栓 1例 筋肉痛 2例	注入部痛(Grade1:5例、Grade2:3例) 全身症状(Grade1:19例、Grade2:4例) [倦怠、筋肉痛、発熱、悪寒] 疲労 6例(Grade1) 嘔気 3例(Grade1-2) アレルギー反応 1例(Grade2)
有効性	SD: 1例、PD: 3例	PR:1例、PD:13例	CR: 1例、PR:2例、SD: 7例、PD:21例
転帰	死亡: 4例(生存期間: 7ヶ月、45ヶ月、 72ヶ月、103ヶ月)	死亡: 13例(生存期間: 12ヶ月以内)	生存期間: 中央値 11ヶ月(2-72ヶ月) 1年生存率: 48%、3年生存率: 19%
出典	日本臨床 63:454-463, 2005	Cancer Res 57:1537-1546, 1997	Cancer 101:2557-2566, 2004
研究者	谷 憲三郎	Simons JW	Galanis E
施設名	東京大学医科学研究所	Johns Hopkins University	Mayo Clinic and Mayo Foundation

その他に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、比較的大規模な正電荷リボソームベクターによる進行期悪性腫瘍に対する遺伝子治療の第 I /

II 相試験を実施している²⁹⁾。その報告によると、登録 52 症例中 17 例が腎細胞癌患者であり、評価可能であった 14 例中 2 例(14%)で有効、2 例(14%)で安定という結果であった。また、この臨床研究では最大 1,500 μ g という比較的大量のプラスミド DNA を皮膚・皮下・リンパ節・肝臓・腎臓・副腎・後腹膜・肺などに対し週 1 回、計 6 回注入しているが、重篤な副作用は一例も認めていない。この報告は方法論的には我々が実施しようとしているプロトコールと非常に近似したものである。今回我々は 1 回の使用プラスミド DNA 量を Galanis らのプロトコールの約 17%の量である 250 μ g に設定しており、このことは我々の臨床研究の安全性を強く示唆するものであるといえる。さらに、Galanis らは腎細胞癌患者の 31 症例にたいして、プラスミド DNA 量を最大 4,000 μ g まで増量し同様の遺伝子治療を施行した²⁴⁾。1 例(3%)で著効、2 例(6%)で有効、7 例(23%)で安定、21 例(68%)で進行であった。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 回の注入を行った。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)を認めたが、重篤な副作用はなかった。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。

(2) リポソームを用いた遺伝子治療の開発

リポソームは脂質二重膜よりなる閉鎖小胞であり古くから drug delivery system として注目を集め、一部では臨床応用されている。リポソームについては、①生体膜に類似した構造を有しており、細胞などと相互作用しやすく、②その組成の多くは生体膜に由来するため毒性が低く、抗原性が少ない、③遺伝子を含めた種々の物質を物理化学的に包埋できる、④リポソームの表面に抗原、抗体、糖などの特異的リガンドを結合できる、などの利点があげられる。従来のリポソームは遺伝子の delivery system としては効率が悪く、その利用価値は少なかったが、Felgner ら³⁰⁾が合成カチオン性脂質、N-L-(2,3 ジオレオキシ)-プロピル- N,N,N- トリメチルアンモニウムクロライド(DOTMA)を用いたリポソームによる遺伝子導入(リポフェクション)で高い遺伝子導入効率が得られることを明らかにしたことを契機に、遺伝子導入用リポソームの開発が盛んに行われるようになった。

リポソームを用いた遺伝子治療開発に関する基礎的研究は癌・嚢胞性線維症・脳炎をはじめ多くの疾患を対象に行われてきた。噴霧による肺や気管支あるいは鼻腔上皮への遺伝子導入、カテーテルを用いた血管内皮細胞への遺伝子導入、腫瘍内への直接投与、全身投与による治療効果などがその例である。臨床研究については、米国あるいは英国で DC-chol/DOPE リポソームを用いた転移性皮下腫瘍に対する遺伝子治療と同リポソームや DMRIE/DOPE リポソームを用いた線維性嚢胞症に対する遺伝子治療などが進められている。その一例が、前述の Galanis らによる、正電荷リポソームを用いたインターロイキン 2 遺伝子導入による、進行期悪性腫瘍に対する遺伝子治療の第 I / II 相試験である²⁹⁾。また、シンガポール大学の Hui ら³¹⁾は皮膚転移巣内へ HLA サブタイプと murine H-2K の遺伝子をリポソーム法で遺伝子導入し、卵巣癌や子宮頸癌で顕著な増殖抑制が観察されたと報告している。線維性嚢胞症に対する遺伝子治療臨床研究は英国の National Heart and Lung Institute で開始され、患者 15 症例に DC-chol/DOPE リポソーム

を用いて cystic fibrosis transmembrane conductance regulator (CFTR) 遺伝子が気管上皮に噴霧された。気管上皮への毒性、炎症反応、遺伝子導入効率が検討された結果、ヒトにおいて安全に施行できること³²⁾、また動物実験では繰り返し投与も可能なことなどが報告されている³³⁾。

本臨床研究の共同研究者である名古屋大学の吉田らは、これまで用いられてきた unilamellar vesicles とは異なる multilamellar vesicle (MLV) の正電荷リポソームを遺伝子治療のベクターとして開発した¹⁴⁻¹⁸⁾。この multilamellar vesicle (MLV) は DNA が表面に結合する unilamellar vesicle と異なり、DNA の多くは胞内に包埋されるという特徴を有する。彼らは名古屋大学医学部附属病院において、このリポソームに pDRSV-IFN β を包埋した遺伝子製剤 IAB-1 を clinical grade の製剤として生産、調製する体制を整えたうえで、旧文部省、旧厚生省の許可をえて、2000年4月より悪性グリオーマに対する遺伝子治療臨床研究を開始した^{17, 18)}。第1例目では画像診断学的ならびに病理組織学的に一定の効果が認められ、重篤な有害反応はみられなかった。現在、この製剤の凍結乾燥製剤が作製され、安定的な供給が可能となった。第2例目以降の治療にはこれらの製剤が使用され、効果と安全性が確認されている。本遺伝子治療臨床研究では、最終的に5例中2例において近接効果にて PR が得られ、奏効率 40% の治療成績が得られている。5例とも、すでに死亡の転帰をとっているが、PR が得られた2例の生存期間は、26 および 29 ヶ月であり、SD であった3例の生存期間(6-11 ヶ月)より、明らかに延長していた。さらに、上述のヒト 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 (IAB-1) を進行期悪性黒色腫患者の皮膚転移巣に局所注入する遺伝子治療臨床研究が、2003 年より信州大学医学部皮膚科で行われた。治療効果は、5 症例中 3 症例で PD (増悪)、1 症例で NC (不変)、1 症例で治療を受けた皮膚病巣の完全退縮と新たな皮膚転移巣の出現がみられ、MR (mixed response) であった。IAB-1 注入皮膚転移巣の反応は、1 例で完全消失、1 例で不変、2 例で一旦平坦化した後に増大、1 例で増大であった。転帰は、5 症例中 3 症例が、治療開始後 6-11 ヶ月後に死亡、2 症例は治療開始後 1 年の時点で生存、であった。重篤な有害反応はみられなかった³⁴⁾。

対象疾患	悪性グリオーマ(脳腫瘍)	悪性黒色腫(皮膚癌)
施設名	名古屋大学脳外科	信州大学皮膚科
患者数	5 例	5 例
投与方法	定位脳手術による腫瘍内局所注入	腫瘍内局所注入
DNA 1 回投与量	15 μ g (2 回/週) 30 μ g (1 回/週)	10 μ g/病変(1cm 未満:1 病変;2 例、3 病変:2 例) 30 μ g/病変(1cm 以上 2cm 未満:1 病変;2 例)
投与間隔	4 例:30 μ g/回、1 回/週 1 例:1 回目:30 μ g/回、2-6 回目:15 μ g	3 回/週
総投与回数	1-6 回(平均:3.4 回)	6 回
DNA 総投与量	平均:87 μ g (30-120 μ g)	平均:132 μ g (60 μ g:2 例、180 μ g:3 例)
副作用 (本治療と直接関)	貧血;3 例(軽度:術後一過性) 白血球減少;1 例(軽度:一過性)	蜂窩織炎;1 例(軽度:治療前より繰り返していた) 食欲不振、悪心;1 例(軽度:リン酸コデイン服用によ

連が薄いもの)	白血球増多:1例(軽度) CRP 上昇:5例(軽度:3例は術後一過性) γ-GTP 上昇:3例(軽度:2例は抗生剤による) 低蛋白血症:1例(軽度:長期入院による) 脳出血:1例(軽度)、硬膜下血腫:1例(軽度) 髄液鼻漏:1例(軽度)、髄膜炎:1例(軽度) 術後気胸:1例(軽度)	る)
副作用 (本治療と直接関 連が疑われるも の)	脳浮腫:1例(軽度)、髄液貯留:1例(軽度) 一過性麻痺:1例(軽度)	発熱:1例(軽度:37.3°C)
有効性 (治療した腫瘍の 縮小効果)	PR:2例、SD:3例	CR:1例、NC:1例、PD:3例
有効性** (総合判定)	PR:2例、SD:3例	NC:1例、PD:3例、MR*:1例
転帰	死亡:5例(生存期間:6、11、13、26、29ヶ月)	死亡:3例(生存期間:6、10、11ヶ月) 生存:2例(治療開始後12ヶ月)

* 25%を超える縮小と25%を超える増大の混在

(3) ヒトインターフェロンを発現するベクターを用いた遺伝子治療の現状

我が国では、インターフェロンβがメラノーマ(悪性黒色腫)の保険適応となっており、局所注入療法が行われている。メラノーマ細胞のインターフェロンへの感受性が、インターフェロン遺伝子発現量に比例すること、メラノーマ細胞では、インターフェロンの遺伝子座が高頻度に欠失していることより、インターフェロンβ遺伝子をメラノーマ細胞に導入する遺伝子治療が考案された。上述のごとくヒト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(IAB-1)を進行期メラノーマ患者の皮膚転移巣に局所注入する遺伝子治療臨床研究が、2003年より信州大学医学部皮膚科で行われた³⁴⁾。

米国では、アデノウイルスベクターを用いたインターフェロンβの遺伝子治療第I相臨床試験が行われ、卵巣癌患者1例の結果が報告されている³⁵⁾。術後6年目に、癌性胸水および癌性腹水を呈した患者に対して抗癌剤による化学療法およびホルモン療法を行うも増悪を認めた。この後、胸腔ドレーンよりインターフェロンβ遺伝子を含むアデノウイルスベクターが局所投与された。治療開始後2ヶ月の画像診断では、腹部病巣部の完全消失と、胸壁病巣部のわずかの残存を認めるのみであったが、治療開始後4ヶ月に腹水の増悪を認めた。またこの報告の中で、著者は9症例の悪性胸水を有する症例(7症例の中皮腫、2症例の肺癌)に対して、インターフェロンβ遺

伝子を発現するアデノウイルスベクターを用いた同様の第 I 相臨床試験を行い、4症例が SD(安定)であったことを、治療効果として述べている。

現時点においては、多数症例に対するインターフェロンを発現するベクターを用いた遺伝子治療の報告はない。

12. 実施施設の施設設備の状況

京都府立医科大学泌尿器外科学および腫瘍薬剤制御学の研究室では、泌尿器科領域の細胞生物学的研究および分子生物学的研究を行ってきており、これまでに癌細胞株を用いた遺伝子導入実験も行ってきた。特にヒト腎細胞癌細胞株におけるIAB-1の抗腫瘍効果については、詳細に検討し報告している¹⁹⁾。よって、IAB-1の癌細胞株への遺伝子導入や遺伝子導入された細胞株のヒトβ型インターフェロン産生能の測定を行うための実験設備と実験技術を備えている。このため、名古屋大学医学部附属病院より京都府立医科大学附属病院へIAB-1凍結乾燥製剤が運送された後に、ヒトβ型インターフェロン産生能を維持していることを検証し品質保持の確認を行うことは、可能である。当該遺伝子治療臨床研究は、IAB-1を超音波ガイド下に投与する場合は京都府立医科大学附属病院中央手術部 手術室において、CTガイド下に投与する場合は京都府立医科大学附属病院放射線部 CT室において、経皮的に注入用針を病巣部に穿刺し行う。京都府立医科大学附属病院泌尿器科では、これまでに腎腫瘍に対する生検を同様の方法で経皮的穿刺により行ってきた経験があり、当該遺伝子治療臨床研究における投与方法に関して技術的には問題がないと考えられる。用いた器具はエチレンオキサイドガス滅菌装置を用いて処理し、用いた正電荷リポソーム製剤により汚染したものは、通常の感染性廃棄物として廃棄処分する。

13. 研究者の略歴・研究業績

(1) 研究者の略歴

- ① 三木恒治 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・教授
- 1975年3月 大阪大学医学部卒業
- 1975年7月 大阪大学医学部附属病院・研修医、
麻酔科勤務および泌尿器科勤務
- 1976年7月 大阪府立成人病センター泌尿器科
- 1984年2月 医学博士(大阪大学)
- 1986年4月 アメリカ合衆国インディアナ大学留学(同6月帰国)
- 1992年8月 大阪大学医学部泌尿器科学講座・講師
- 1995年11月 大阪大学医学部泌尿器科学講座・助教授
- 1998年10月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・教授
- 2001年4月 京都府立医科大学附属病院化学療法部・部長
- 2002年4月 京都府立医科大学附属病院中央診断部・部長
- 2003年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器機能再生外科学・
教授
- 2006年8月 京都府立医科大学医学部医学科腫瘍薬剤制御学講座・
教授(併任)、
- 2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学教授、現在に
至る。
- ② 高羽夏樹 京都府立医科大学医学部医学科 腫瘍薬剤制御学講座・准教授
- 1988年3月 大阪大学医学部卒業
- 1988年7月 大阪大学医学部附属病院・研修医、泌尿器科勤務
- 1989年7月 大阪府立病院・研修医、泌尿器科及び麻酔科勤務
- 1990年7月 兵庫医科大学医員、泌尿器科
- 1991年4月 大阪大学大学院医学研究科入学(生理系専攻(第一薬理学))
- 1995年3月 大阪大学大学院医学研究科博士課程終了・学位取得
- 1995年4月 大阪府立病院医員、泌尿器科
- 1997年6月 大阪大学医学部泌尿器科学講座・助手
- 1997年9月 米国ジョーンズホプキンス大学 泌尿器科留学・postdoctoral fellow
- 1999年4月 大阪大学大学院医学系研究科器官制御外科学(泌尿器科)・助手
- 2001年2月 留学終了、帰国
- 2004年6月 東大阪市立総合病院医員、泌尿器科
- 2006年6月 西陣病院医員、泌尿器科
- 2006年6月 京都府立医科大学 泌尿器科・研修員
- 2006年8月 京都府立医科大学医学部医学科 腫瘍薬剤制御学講座・講師

2006年10月 京都府立医科大学医学部医学科 腫瘍薬剤制御学講座・助教授
2007年4月 京都府立医科大学医学部医学科 腫瘍薬剤制御学講座・准教授、
現在に至る

③ 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
1984年3月 京都府立医科大学医学部医学科卒業
1984年5月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・研修医
1985年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学
1989年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科修了
1989年4月 国立舞鶴病院・医員
1990年4月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・修練医
1991年1月 名古屋泌尿器科病院・副院長
1991年10月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・助手
1998年2月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・講師
2003年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器機能再生外科学・
助教授
2007年4月 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、
現在に至る

④ 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
1989年3月 京都府立医科大学医学部卒業
1989年4月 京都府立医科大学泌尿器科学教室入局
1990年4月 京都府立医科大学大学院外科系入学(専攻:泌尿器科学)
1995年3月 京都府立医科大学大学院終了・学位取得
1995年4月 西陣病院・泌尿器科医長
1996年4月 京都府立医科大学泌尿器科学教室・助手
1999年6月 米国テキサス州テキサス大学、M.D.アンダーソン癌センター
泌尿器科・visiting assistant professor
2001年7月 滋賀県近江八幡市民病院泌尿器科:副部長
2002年5月 京都府立医科大学泌尿器科・助手
2003年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器機能再生外科学・
講師
2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・講師、
現在に至る

- ⑤ 三神一哉 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・助教
- 1990年3月 京都府立医科大学医学部 卒業
- 1990年4月 京都府立医科大学附属病院研修医（泌尿器科）
- 1991年4月 国立舞鶴病院泌尿器科医師
- 1992年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学
- 1996年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科単位取得の上退学
- 1996年4月 京都府立医科大学修練医（泌尿器科）
- 1996年10月 京都府立医科大学医学部泌尿器科学教室 助手
- 1997年4月 堀川病院泌尿器科
- 1998年1月 学位取得（医学博士）
- 1999年4月 市立福知山市民病院泌尿器科
- 2001年4月 松下記念病院泌尿器科
- 2003年5月 京都府立医科大学医学部泌尿器科学教室 助手
- 2005年4月 京都府立与謝の海病院泌尿器科 助手
- 2006年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器機能再生外科学
助手
- 2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 助教
現在に至る
- ⑥ 中村晃和 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・助教
- 1993年3月 京都府立医科大学医学部卒業
- 1993年4月 京都府立医科大学附属病院研修医（泌尿器科）
- 1994年4月 西陣病院泌尿器科
- 1995年4月 京都府立医科大学附属病院修練医（泌尿器科）
- 1996年4月 京都第二赤十字病院泌尿器科
- 1998年4月 京都府立医科大学修練医（泌尿器科）
- 1998年10月 第二岡本総合病院泌尿器科
- 1999年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学
- 2001年3月 カナダ マウントサイナイ病院・トロント大学留学
(2003年2月まで)
- 2003年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科修了
- 2003年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器機能再生外科学・
助手
- 2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・助教
現在に至る

- ⑦ 山上卓士 京都府立医科大学大学院医学研究科放射線診断治療学・講師
- 1991年3月 京都府立医科大学 卒業
- 1991年4月 京都府立医科大学 研修医(小児疾患研究施設 外科部門)
- 1993年4月 朝日大学歯学部 村上記念病院 外科・助手
- 1995年4月 愛知県がんセンター 放射線診断部 レジデント
- 1997年4月 愛知県がんセンター 放射線診断部 任意研修医
- 1998年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科入学
- 2001年3月 京都府立医科大学大学院医学研究科終了
- 2001年4月 京都府立医科大学 放射線医学教室・助手
- 2003年4月 京都府立医科大学・大学院大学医学研究科 放射線診断治療学
教室 講師
- 2005年7-9月 コネチカット州エール大学に留学
- 2007年4月 京都府立医科大学大学院医学研究科放射線診断治療学 講師
現在に至る

- ⑧ 若林俊彦 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学・教授
- 1981年3月 名古屋大学医学部医学科卒業
- 1985年3月 名古屋大学大学院医学研究科博士課程修了
- 1985年4月 名古屋大学医学部附属病院脳神経外科医員
- 1986年1月 静岡厚生病院脳神経外科医員
- 1987年4月 静岡厚生病院脳神経外科医長代理
- 1987年8月 ハンガリー政府国費奨学金留学生として
国立脳神経外科科学研究所(O. I. T. I)へ留学
- 1989年2月 ウイーン大学脳神経外科(AKH)にて研修
- 1989年3月 名古屋第2赤十字病院脳神経外科医員
- 1989年7月 名古屋大学医学部脳神経外科助手
- 1993年12月 国際協力事業団(JICA)の派遣要請にて
インド国カンジャカゾー医科学研究所にて技術指導
- 1997年8月 インドネシアに脳神経外科国際交流要員として出張
- 1997年11月 文部省在外研究員としてカナダ・トロント大学に留学
- 1997年11月 名古屋大学医学部附属病院脳神経外科講師
- 2001年4月 名古屋大学医学部バイオ医療学(東レ)寄附講座助教授
- 2002年6月 名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センター
遺伝子医療分野准教授
- 2008年6月 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学教授
名古屋大学医学部附属病院遺伝子再生医療センター
副センター長(兼任)

現在に至る

- ⑨ 吉田 純 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院・院長
- 1969年3月 名古屋大学医学部卒業
- 1969年4月 名古屋第一赤十字病院勤務
- 1972年7月 京都府立医科大学病理学講座研究生
- 1976年7月 New York University Medical Center に留学
- 1978年2月 岐阜県立多治見病院脳神経外科・医長
- 1980年4月 愛知県厚生連加茂病院脳神経外科・第二部長
- 1982年1月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・助手
- 1991年9月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・講師
- 1996年2月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・教授
- 2000年4月 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授
- 2008年4月 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院・院長
- 現在に至る
-
- ⑩ 水野正明 名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野・准教授
- 1986年3月 富山医科薬科大学医学部卒業
- 1986年4月 名古屋大学大学院医学研究科博士課程入学
- 1990年3月 名古屋大学大学院医学研究科博士課程退学
- 1990年4月 社会保険中京病院脳神経外科医員
- 1992年1月 名古屋大学医学博士学位取得
- 1995年4月 国立長寿研究センター・リサーチレジデント
- 1996年5月 名古屋大学医学部脳神経外科学講座・助手
- 1999年4月 名古屋大学大学院医学研究科遺伝子治療学分野・助教授
- 2007年4月 名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野・准教授、
- 現在に至る

(2)研究者の研究業績

① 三木恒治 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・教授

1. Mori Y, Kiyohara H, Miki T, Kotake T. Pheochromocytoma with prominent calcification and associated pancreatic islet cell tumor. *J Urol* 118, 843-844, 1977
2. Tateishi R, Wada A, Ishiguro S, Ehara M, Sakamoto H, Miki T, Mori Y, Matsui Y, Ishikawa O. Coexistence of bilateral pheochromocytoma and pancreatic islet cell tumor. *Cancer* 42, 2928-2934, 1978
3. Kotake T, Usami M, Miki T, Kuroda M, Obata K, Osafune M, Fujioka H, Takasugi Y. Combination chemotherapy including adriamycin for advanced transitional cell carcinoma of the urinary tract. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 11 supplement, 38-42, 1983
4. Kotake T, Usami M, Miki T, Kuroda M, Obata K, Osafune M, Fujioka H. ADRIAMYCIN : Its expanding role in cancer treatment. Ed by Ogawa M, Muggia X and Treatment Rozenzweig M. *Excerpta Medica*, 355-365, 1984
5. Miki T, Saiki S, Kinouchi T, Kuroda M, Kiyohara H, Usami M, Kotake T. Urachal carcinoma diagnosis by CT scan. *Nishinohon J Urol* 48, 1271-1273, 1986
6. Miki T, Saiki S, Kinouchi T, Kuroda M, Kiyohara H, Usami M, Sawada M, Kotake T. Immunosuppressive acidic protein in patients with testicular cancer. *J Urol* 137, 48-52, 1987
7. Kiyohara H, Kuroda M, Saiki S, Miki T, Kinouchi T, Usami M, Kotake T. Postoperative systemic adjuvant chemotherapy for bladder cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 20 supplement, 34-38, 1987
8. Narumi Y, Sato T, Kuriyama K, Fujita M, Saiki S, Kuroda M, Miki T, Kotake T. Vesical dome tumors: Significance of extravesical extension on CT. *Radiology* 169, 383-385, 1988
9. Akaza H, Hagiwara M, Deguchi N, Kawai T, Satomi Y, Matsuda T, Miki T, Ueda T, Kotake T, Tazaki H, Aso Y, Nijima T, The Carboplatin Study Group. Phase II trial of carboplatin in patients with advanced germ-cell testicular tumors and transitional cell carcinomas of the urinary tract. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 23, 181-185, 1989
10. Kotake T, Miki T. *Cancer Chemotherapy : Challenges for the Future*. Ed by Kimura K, Ota K, Carter S.K, Pinedo, H.M. *Excerpta Medica*, 248-255, 1989
11. Yoshimura K, Maeda O, Saiki S, Kuroda M, Miki T, Usami M, Kotake T. Solitary neurofibroma of scrotum. *J Urol* 143, 823, 1990
12. Kotake T, Miki T. Combination salvage chemotherapy using cisplatin and teniposide for patients with refractory germinal testicular tumors. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 27, 85-88, 1990
13. Kotake T, Miki T, Akaza H, Kubota Y, Nishio Y, Matsumura Y, Ota K, Ogawa N. Effect of recombinant granulocyte colony-stimulating factor (rG-CSF) on chemotherapy-induced neutropenia in patients with urogenital cancer. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 27, 253-257, 1991
14. Kotake T, Kinouchi T, Saiki S, Kuroda M, Miki T, Kiyohara H, Usami M. Treatment of metastatic renal cell carcinoma with a combination of human lymphoblastoid interferon-alpha and cimetidine. *Jap J Clin Oncol* 21, 46-51, 1991
15. Akaza H, Togashi M, Nishio Y, Miki T, Kotake T, Matsumura Y, Yoshida O, Aso Y, 254-S Urological Cancer Study Group. Phase II study of cis-diammine (glycolato) platinum, 254-S, in patients with advanced germ-cell testicular cancer, prostatic cancer, and transitional-cell carcinoma of the urinary tract. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology* 31, 87-192, 1992
16. Hanai J, Lin M, Wada A, Ishiguro S, Miki T, Sakaguchi H, Kanda H. Expression of intermediate filaments and other special markers by testicular germ cell tumors. With reference to embryogenesis. *Histology and Histopathology*, 533-541, 1992
17. Adolfsson J, Akaza H, Algaba F.B., Altwein J.E, Andersson L, Aso Y, Bagshaw M.A, Benson M.C, Miki T, Kotake T et al. *Proceedings of 3rd international Symposium on Recent Advances in Urologic Cancer Diagnosis and Treatment*. Scientific Communication Int Ltd, 419-425, 1993
18. Miki T, Ishiguro S, Sawada M, Kotake T. Antitumor effect of recombinant human tumor necrosis factor on human testicular tumors heterotransplanted in nude mice. *Eur Urol* 25, 242-247, 1994
19. Tsuboniwa N, Miki T, Kuroda M, Maeda O, Saiki S, Kinouchi T, Usami M, Kotake T. Primary adenocarcinoma in an ileal conduit. *Int J Urol* 3, 64-66, 1996
20. Takada S, Namiki M, Matsumiya K, Park N, Kondoh N, Uchida K, Kitamura M, Takahara S, Miki T, Okuyama A. Expression of CD44 splice variants in human transitional cell carcinoma. *Eur Urol* 29, 370-373, 1996
21. Takada S, Namiki M, Takahara S, Matsumiya K, Kondoh N, Kitamura M, Uchida K, Koga M, Jiang H,

- Kokado Y, Kameoka H, Miki T, Matsumoto K, Nakamura T, Okuyama A. HGF prevents the tacrolimus (FK506)-induced nephrotoxicity in SHR rats. *Transplantation Proceedings* 28, 1089-1090, 1996
22. Nonomura N, Miki T, Yokoyama M, Imazu T, Takada T, Takeuchi S, Kanno N, Nishimura K, Kojima Y, Okuyama A. Fas/APO-1-mediated apoptosis of human renal cell carcinoma. *Biochem Biophys Res Comm* 229, 945-951, 1996
 23. Tsuboniwa N, Kuroda M, Hanafusa T, Maeda O, Saiki S, Kinouchi T, Miki T, Usami M, Kotake T. Giant hydronephrosis of bilateral duplex systems associated with ureteral ectopia: a case report. *Acta Urol Jap* 42, 587-590, 1996
 24. Takada T, Kitamura M, Matsumiya K, Miki T, Kiyohara H, Namiki M, Okuyama A. Infrared thermometry for rapid, noninvasive detection of reflux of spermatic vein in varicocele. *J Urol* 156, 1652-1654, 1996
 25. Takahara S, Sada M, Hatori M, Wang JD, Tsuji T, Kokado Y, Kameoka H, Li D, Ichimura N, Miki T, et al. Importance of HLA-DRB1 molecular matching between recipient and donor in cadaveric renal transplantation. *Transplantation Proceedings* 28, 1255-1256, 1996
 26. Miki T, Sawada M, Nonomura N, Kojima Y, Okuyama A, Maeda O, Saiki S, Kotake T. Antitumor effect of CPT-11, a camptothecin derivative, on human testicular tumor xenografts in nude mice. *Eur Urol* 31, 92-96, 1997
 27. Kokado Y, Takahara S, Hatori M, Ichimaru N, Wang JD, Miki T, Okuyama A. Acute rejection episodes predict long-term renal transplantation survival. *Transplantation Proceedings* 29, 1537-1560, 1997
 28. Yasunaga Y, Hoshida Y, Hashimoto M, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Malignant lymphoma of the kidney. *J Surg Oncol* 64, 207-211, 1997
 29. Tsuboniwa N, Meguro N, Nakamura Y, Maeda O, Saiki S, Kinouchi T, Kuroda M, Miki T, Usami M, Kotake T. Coexistence of renal cell carcinoma, and renal angiomyolipoma developing in a kidney. *Acta Urol Jap* 43, 131-135, 1997
 30. Nonomura N, Miki T, Nishimura K, Kanno N, Kojima Y, Okuyama A. Altered imprinting of the H19 and insulin-like growth factor II genes in testicular tumors. *J Urol* 157, 1977-1979
 31. Nonomura N, Nishimura K, Miki T, Kanno N, Kojima Y, Yokoyama M, Okuyama A. Loss of imprinting of the insulin-like growth factor II gene in renal cell carcinoma. *Cancer Res* 57, 2575-2577, 1997
 32. Nonomura N, Murosaki N, Kojima Y, Kondoh N, Seguchi T, Takeda Y, Oji Y, Ogawa H, Sugiyama H, Miki T, Okuyama A. Secondary acute monocytic leukemia occurring during the treatment of a testicular germ cell tumor. *Urologia Internationalis* 58, 239-242, 1997
 33. Yazawa K, Nonomura N, Kokado Y, Aozasa K, Miki T. Vesico-adenaxal fistula following endometriosis of an ovary. *British J Urol* 79, 658, 1997
 34. Wang JD, Nonomura N, Ichimaru N, Azuma H, Hatori M, Kokado Y, Matsumiya K, Miki T, Takahara S, Okuyama A. Expression of Fas and Fas ligand in renal grafts with acute and chronic rejection in the rat model. *J Interferon and Cytokine Res* 17, 369-373, 1997
 35. Kojima Y, Kominami K, Dohmae K, Nonomura N, Miki T, Okuyama A, Nishimura Y, Okabe M. Cessation of spermatogenesis in juvenile spermatogonial depletion (jsd/jsd) mice. *Int J Urol* 4, 500-507, 1997
 36. Kondoh G, Yomogida K, Dohmae K, Nozawa M, Koga M, Nonomura N, Miki T, Okuyama A, Nishimura Y. Coexpression of multiple Sertoli cell and Leydig cell marker genes in the spontaneous testicular tumor of F344 rat: Evidence for phenotypical bifurcation of the interstitial cell tumor. *Jap J Cancer Res* 88, 839-845, 1997
 37. Fujimoto M, Tsujimoto Y, Nonomura N, Kojima Y, Miki T, Okuyama A. Renal pelvic cancer with tumor thrombus in the vena cava inferior: A case report and review of the literature. *Urologia Internationalis* 59, 263-265, 1997
 38. Nonomura N, Miki T, Nishimura K, Harada Y, Nozawa M, Kanno N, Kojima Y, Yokoyama M, Okuyama A. Altered imprinting of insulin-like growth factor II gene in transitional-cell carcinoma. *Mol Urol* 1, 287-291, 1997
 39. Miki T, Kojima Y, Nonomura N, Matsumiya K, Kokado Y, Yoshioka T, Takahara S, Okuyama A. Transurethral visual laser ablation of the prostate for benign prostatic hyperplasia Using a KTP/YAG laser. *Int J Urol* 4, 576-579, 1997
 40. Nishimura K, Kitamura M, Takada S, Nonomura N, Matsumiya K, Miki T, Matsumoto K, Okuyama A. Regulation of invasive potential of human prostate cancer cell lines by hepatocyte growth factor. *Int J Urol* 5, 276-281, 1997
 41. Fujita MQ, Shin M, Yasunaga Y, Sekii K, Itatani H, Tsujimura T, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Incidence of prostatic intra-epithelial neoplasia in Osaka, Japan. *Int J Cancer* 73, 808-811, 1997

42. Yasunaga Y, Nakanishi H, Naka N, Miki T, Tsujimura T, Itatani H, Okuyama A, Aozasa K. Alterations of the p53 gene in occupational bladder cancer in workers exposed to aromatic amines. *Laboratory Investigation* 77, 677-684, 1997
43. Kanno N, Nonomura N, Miki T, Kojima Y, Takahara S, Nozaki M, Okuyama A. Effects of epidermal growth factor on the invasion activity of the bladder cancer cell line. *J Urol* 159, 586-590, 1998
44. Shin M, Fujita MQ, Yasunaga Y, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Utility of immunohistochemical detection of high molecular weight cytokeratin for differential diagnosis in proliferative conditions of prostate. *Int J Urol* 5, 237-242, 1998
45. Yasunaga Y, Shin M, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Prognostic factors of renal cell carcinoma: A multivariate analysis. *J Surg Oncol* 68, 11-18, 1998
46. Miki T, Nonomura N, Saiki S, Kotake T. Long term results of adjuvant irradiation or surveillance in stage I testicular seminoma. *Int J Urol* 5, 357-360, 1998
47. Miki T, Nonomura N, Takaha N, Nishimura K, Kojima Y, Sawada M, Okuyama A. Antitumor effect of CPT-11 on human renal cell tumors heterotransplanted in nude mice. *Int J Urol* 5, 370-373, 1998
48. Miki T, Nonomura N, Takaha N, Nishimura K, Kojima Y, Sawada M, Okuyama A. Angiogenesis inhibitor TNP-470 inhibits growth and metastasis of a hormone-independent rat prostatic carcinoma cell line. *J Urol* 160, 210-213, 1998
49. Takahara S, Miki T, Hatori M, Kokado Y, Wang J, Okuyama A. A comparative study of FK506 granules and capsules in renal transplant patients. *Transplant Int* 11, 181-185, 1998
50. Miyake O, Yoshimura K, Yoshioka T, Honda M, Matsumiya K, Kokado Y, Miki T, Okuyama A. Operating time and complications in laparoscopic adrenalectomy. *Japanese J Endourology and ESWL* 11, 31-34, 1998
51. Miki T, Takahara S, Okuyama A. Correlations of serum and urine levels of neopterin, IL-8, IL-6, IL-6R, basic fetoprotein, and hepatocytes growth factor with acute rejection in kidney transplantation. *Puteridines* 9, 22-25, 1998
52. Wang J, Nonomura N, Takahara S, B-S Li, Azuma H, Ichimaru N, Kokado Y, Matsumiya K, Miki T, Suzuki S, Okuyama A. Lymphotactin: a key regulator of lymphocyte trafficking during acute graft rejection. *Immunology* 95, 56-61, 1998
53. Kokado Y, Kyo M, Takahara S, Ichimaru N, Wang JD, Toki K, Miki T, Okuyama A. Correlation between Banff classification and reversal of acute renal rejection. *Transplant Proc* 30, 3064-3066, 1998
54. Kokado Y, Takahara S, Kyo M, Ichimaru N, Jing-Ding W, Miki T, Okuyama A. Low-dose tacrolimus (FK506)-based immunosuppressive protocol in living donor renal transplantation. *Transplant Int* 1 supplement, S60-4, 1998
55. Kyo M, Hatori M, Takahara S, Kyakuno M, Nakamura T, Okada M, Kokado Y, Toki K, Ding XQ, Miki T, Miyamoto M, Okuyama A. Morphological findings in non-episode biopsies of kidney transplant allografts treated with FK506 or cyclosporine. *Transplant Int* 1 supplement, S100-3, 1998
56. Yasunaga Y, Shin M, Masaki QF, Nonomura N, Miki T, Okuyama A, Aozasa K. Different patterns of p53 mutations in prostatic intraepithelial neoplasia and concurrent carcinoma: analysis of microdissected specimens. *Laboratory Investigation* 78, 1275-1279, 1998
57. Kondo M, Nonomura N, Miki T, Kojima Y, Yokoyama M, Nakano E, Okuyama A. Enhancement of interleukin-2-induced lymphokine-activated killer activity by interleukin 7 against autologous human renal cell carcinoma. *Oncology* 55, 588-593, 1998
58. Yoshimura K, Yoshioka T, Miyake O, Matsumiya K, Miki T, Okuyama A. Comparison of clinical outcomes of laparoscopic and conventional open adrenalectomy. *J Endourology* 12, 555-559, 1998
59. Kotake T, Usami M, Miki T, Togashi M, Akaza H, Kubota Y, Matsumura Y. Effect of recombinant human granulocyte colony stimulating factor (lenograstim) on chemotherapy induced neutropenia in patients with urothelial cancer. *Int J Urol* 6, 61-67, 1999
60. Harada Y, Nonomura N, Nishimura K, Tamaki H, Takahara S, Miki T, Sugiyama H, Okuyama A. WT1 gene expression in human testicular germ-cell tumors. *Mol Urol* 3, 357-363, 1999
61. Ogata M, Takada T, Mori Y, Uchida Y, Miki T, Okuyama A, Kosugi A, Sawada M, Oh-hora M, Hamaoka T. Regulation of phosphorylation level and distribution of PTP36, a putative protein tyrosine phosphatase, by cell-substrate adhesion. *J Biol Chem* 274, 20717-20724, 1999
62. Imazu T, Shimizu S, Tagami S, Matsushima M, Nakamura Y, Miki T, Okuyama A, Tsujimoto Y. Bcl-2/E1B 19 kDa-interacting protein 3-like protein (Bnip3L) interacts with Bcl-2/Bcl-xL and induces apoptosis by altering mitochondrial membrane permeability. *Oncogene* 18, 4523-4529, 1999
63. Harada Y, Nonomura N, Kondo M, Nishimura K, Takahara S, Miki T, Okuyama A. Clinical study of brain

- metastasis of renal cell carcinoma. *Eur Urol* 36, 230-235, 1999
64. Mizutani Y, Yoshida O, Miki T, Bonavida B. Synergistic cytotoxicity and apoptosis by Apo-2 ligand and adriamycin against bladder cancer cells. *Clin Cancer Res* 5, 2605-2612, 1999
 65. Mizutani Y, Yoshida O, Miki T. Adriamycin-mediated potentiation of cytotoxicity against freshly isolated bladder cancer cells by autologous non-activated peripheral blood lymphocytes and tumor infiltrating lymphocytes. *J Urol* 162, 2170-2175, 1999
 66. Willson A.P, Garner C.M, Sharp S.Y, Kelland L.R, Satyaswaroop P.G, Lee C.S.L, Musgrove E.A, Wistuba i.I, Sawada M, Miki T et al. *Human Cell Culture Vol. II Cancer Cell Lines Part 2*. Ed by Masters JRW, Palsson B, editors. Kluwer Academic Publishers, 121-125, 1999
 67. Kawauchi A, Tanaka Y, Soh J, Ukimura O, Kojima M, Miki T. Cause of nocturnal urinary frequency and reasons for its increase with age in healthy older men. *J Urol* 163, 81-84, 2000
 68. Nakamura j, Kojima M, Nakanouchi T, Okihara K, Ukimura O, Nakao M, Miki T. Significant changes in transrectal ultrasonic measurements of the prostate in relation to the degree of rectal wall distension. *Ultrasound in Med Biol* 26, 29-34, 2000
 69. Nozawa M, Yomogida K, Kanno N, Nonomura N, Miki T, Okuyama A, Nishimune Y, Nozaki M. Prostate-specific transcription factor hPSE is translated only in normal prostate epithelial cells. *Cancer Res* 60, 1348-1352, 2000
 70. Kojima M, Ochiai A, Naya Y, Okihara K, Ukimura O, Miki T. Doppler resistive index in benign prostatic hyperplasia: correlation with ultrasonic appearance of the prostate and infravesical obstruction. *Eur Urol* 37, 436-442, 2000
 71. Inaba M, Fushiki S, Yaoi T, Iwata T, Kamoi K, Okihara K, Ukimura O, Kawauchi A, Miyashita H, Kojima M, Miki T. Changes in extracellular matrix components of bladder detrusor in relation to bladder hypertrophy and compliance in patients with benign prostatic hyperplasia. *Acta Histochem Cytochem* 33, 133-139, 2000
 72. Kojima Y, Nonomura N, Nose T, Inoue T, Tsuda K, Narumi Y, Nakamura H, Shin M, Yasunaga Y, Aozasa K, Miki T, Okuyama A. Transition zone biopsy in the detection of prostate cancer. *Eur Urol* 37, 675-679, 2000
 73. Okada K, Kojima M, Naya Y, Kamoi K, Yokoyama K, Takamatsu T, Miki T. Correlation of histological inflammation in needle biopsy specimens with serum prostate-specific antigen levels in men with negative biopsy for prostate cancer. *Urology* 55, 892-898, 2000
 74. Okihara K, Kojima M, Nakanouchi T, Okada K, Miki T. Transrectal power Doppler imaging in the detection of prostate cancer. *BJU Int* 85, 1053-1057, 2000
 75. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Jodo E, Kayama Y, Miki T. Are micturition systems influenced by sleep-arousal system? *Psychiatry Clin Neurosci* 54, 259-261, 2000
 76. Iwata T, Ukimura O, Tsuchihashi Y, Watanabe M, Kawauchi A, Kojima M, Miki T. Points of technique and case reports on the Web : A case of primary malignant melanoma of the prostate. *BJU Int* 85, 1154, 2000
 77. Kojima Y, Takahara S, Nonomura N, Sada M, Tsuji T, Hatori M, Fujioka H, Kuroda H, Miki T, Okuyama A. HLA-DRB1 genotypes in Japanese patients with renal cell carcinoma. *Oncology* 59, 57-62, 2000
 78. Honjo H, Naya Y, Ukimura O, Kojima M, Miki T. Acupuncture on clinical symptoms and urodynamic measurements in spinal-cord-injured patients with detrusor hyperreflexia. *Urol Int* 65, 190-195, 2000
 79. Kanemitsu N, Kato MV, Miki T, Komatsu S, Okazaki Y, Hayashizaki Y, Sakai T. Characterization of the promoter of the murine mac25 gene. *Biochem Biophys Res Commun* 279, 251-257, 2000
 80. Nishimura K, Nonomura N, Yasunaga Y, Takaha N, Inoue H, Sugao H, Yamaguchi S, Ukimura O, Miki T, Okuyama A. Low doses of oral dexamethasone for hormonerefractory prostate carcinoma. *Cancer* 89, 2570-2576, 2000
 81. Mizutani Y, Nakao M, Ogawa O, Yoshida O, Bonavida B, Miki T. Enhanced sensitivity of bladder cancer cells to tumor necrosis factor related apoptosis inducing ligand mediated apoptosis by cisplatin and carboplatin. *J Urol* 165, 263-270, 2001
 82. Kawauchi A, Yamao Y, Ukimura O, Kamoi K, Soh J, Miki T. Evaluation of reflux kidney using renal resistive index. *J Urol* 165, 2010-2012, 2001
 83. Nishimura K, Nonomura N, Ono Y, Nozawa M, Fukui T, Harada Y, Imazu T, Takaha N, Sugao H, Miki T, Okuyama A. Oral combination of cyclophosphamide, uracil plus tegafur and estramustine for hormone-refractory prostate cancer. *Oncology* 60, 49-54, 2001
 84. Mizutani Y, Wada H, Fukushima M, Yoshida O, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T. Significance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity in bladder cancer. *Eur J Cancer* 37, 569-575, 2001
 85. Okada K, Yokoyama K, Okihara K, Ukimura O, Kojima M, Miki T, Takamatsu T. Immunohistochemical localization of platelet-derived endothelial cell growth factor expression and its relation to angiogenesis.

- Urology 57, 376-381, 2001
86. Mizutani Y, Nakanishi H, Yoshida O, Fukushima M, Bonavid, B, Miki T. Potentiation of the sensitivity of renal cell carcinoma cells to TRAIL-mediated apoptosis by subtoxic concentrations of 5-fluorouracil Eur J Cancer 38, 167-176, 2001
 87. Kanemitsu N, Kato M, Bai F, Miki T, Inoue T, Sakai T. Correlation between induction of the *mac25* gene and anti-proliferative effects of $1\alpha, 25(\text{OH})_2\text{-D}_3$ on breast cancer and leukemic cells. Int J Molecular Medicine 7, 515-520, 2001
 88. Mizutani Y, Hongo F, Sato N, Yoshida O, Miki T. Significance of serum soluble Fas ligand in bladder cancer. Cancer 92, 287-293, 2001
 89. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Nonomura N, Miki T. Prognostic significance of thymidylate synthase activity in bladder cancer. Cancer 92, 510-518, 2001
 90. Iwata T, Ukimura O, Inaba M, Kojima M, Kumamoto, Ozawa H, Kawata M, Miki T. Immunohistochemical studies on the distribution of nerve fibers in the human prostate with special reference to the anterior fibromuscular stroma. Prostate 48, 242-247, 2001
 91. Nakanouchi T, Okihara K, Kojima M, Ukimura O, Yokoyama K, Takamatsu T, Miki T. Possible use of transrectal power doppler imaging as an indicator of microvascular density of prostate cancer. Urology 58, 573-577, 2001
 92. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Kayama Y, Miki T. Discrete regions in the laterodorsal segmental area of the rat regulating the urinary bladder and external urethral sphincter. Brain Res 912, 162-170, 2001
 93. Nakamura T, Mitsui S, Okui A, Kominami K, Nomoto T, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T, Yamaguchi N. Alternative splicing isoforms of hippostason (PRSS20/KLK11) in prostate cancer cell lines. Prostate 49, 72-78, 2001
 94. Kawauchi A, Tanaka Y, Yamao Y, Inaba M, Kanazawa M, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Follow up study of bedwetting from 3 to 5 years of age. Urology 58, 772-776, 2001
 95. Inaba M, Ukimura O, Kawauchi A, Iwata T, Kanazawa M, Ushijima S, Ochiai A, Kojima M, Miki T. Possible use of ultrasound -estimated bladder weight in evaluating vesicoureteral reflux in children. Ultrasound in Medicine and Biology 27, 1481-1484, 2001
 96. Kanazawa M, Ukimura O, Ushijima S, Kitamura K, Miki T. A case of chronic expanding hematoma in the pelvic space. BJU 88, 1-2, 2001
 97. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Judo E, Kayama Y, Miki T. Sleep-Wake Mechanism 'Are micturition systems influenced by sleep-arousal system?' Psychiatry and Clinical Neurosciences 54, 259-261, 2001
 98. Kawauchi A, Takahara S, Sada M, Goto R, Nakatani T, Miki T. Susceptibility to vesicoureteral reflux in Japanese is linked to HLA-DR antigen. Urology 58, 1036-1039, 2001
 99. Miki T, Nakao M. Current status and future perspectives in the treatment of advanced testicular cancer. Int J Urol 9, 1-10, 2002
 100. Kojima M, Kamoi K, Ukimura O, Fujito A, Nakao M, Tanaka S, Miyashita H, Iwamoto N, Ohe H, Kitamori T, Date S, Kitamura K, Araki H, Aoki T, Imada N, Takada H, Imaide Y, Mikami K, Uchida M, Saitoh M, Miki T. Clinical utility of ursodeoxycholic acid in preventing flutamide-induced hepatopathy in patients with prostate cancer : A preliminary study. Int J Urol 9, 42-46, 2002
 101. Mizutani Y, Sato N, Kawauchi A, Nonomura N, Fukushima M, Miki T. Cisplatin-induced in vivo differentiation of human embryonal carcinoma. BJU Int 89, 454-458, 2002
 102. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Bonavida B, Kawauchi A, Miki T. Prognostic significance of a combination of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase activities in grade 1 and 2 superficial bladder cancer. Oncol Rep 9, 289-292, 2002
 103. Kawauchi A, Yamao Y, Nakanishi H, Naito Y, Tanaka Y, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Relationships between nocturnal urinary volume, bladder capacity and nocturia with and without water load in nonenuretic children. Urology 59, 433-437, 2002
 104. Tanaka Y, Koyama Y, Jodo E, Kayama Y, Kawauchi A, Ukimura O, Miki T. Effects of the acupuncture to the sacral segment on the bladder activity and EEG. Psychiatry and Clin Neurosciences 56, 249-250, 2002
 105. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Bonavida B, Kawauchi A, Miki T. Prognostic Significance of a combination of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase activities in grades 1 and 2 superficial bladder cancer. Eur J Cancer, 167-176, 2002
 106. Okihara K, Miki T, Babaian RJ. Clinical efficacy of prostate cancer detection using power Doppler imaging in American and Japanese men. J Clin Ultrasound 30, 213-221, 2002
 107. Ushijima S, Ukimura O, Kanazawa M, Uchida M, Miki T. Percutaneous cryosurgery for renal oncocytoma.

- BJU Int 89, 1-2, 2002
108. Naya Y, Soh J, Ochiai A, Mizutani Y, Ushijima S, Kamoi K, Ukimura O, Kawauchi A, Fujito A, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Imada N, Marumo K, Murai M, Miki T. Significant decrease of the international index of erectile function in male renal failure patients treated with hemodialysis. *Int J Impot Res* 14, 172-177, 2002
 109. Kawauchi A, Fujito A, Ukimura O, Soh J, Mizutani Y, Imaide Y, Miki T. Hand-assisted retroperitoneoscopic radical nephrectomy : Initial experience. *Int J Urol* 9, 480-484, 2002
 110. Honjo H, Kawauchi A, Ukimura O, Soh J, Mizutani Y, Miki T. Treatment of monosymptomatic nocturnal enuresis by acupuncture : A preliminary study. *Int J Urol* 9, 672-676, 2002
 111. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Kamoi K, Miki T. Prognostic significance of thymidine kinase activity in bladder carcinoma. *Cancer* 95, 2120-2125, 2002
 112. Mizutani Y, Yoshida O, Ukimura O, Kawauchi A, Bonavida B, Miki T. Prognostic significance of a combination of soluble Fas and soluble Fas ligand in the serum of patients with Ta bladder cancer. *Cancer Biother Radio* 17, 563-567, 2002
 113. Miki T, Mizutani Y, Nonomura N, Nomoto T, Nakao M, Sakai S, Kotake T, Okuyama A. Irinotecan plus cisplatin has a substantial antitumor effect as salvage chemotherapy against germ cell tumors. *Cancer* 95, 1879-1885, 2002
 114. Naya Y, Soh J, Ochiai A, Mizutani Y, Kawauchi A, Fujito A, Ushijima S, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Imada N, Nakamura N, Yabe-Nishimura C, Miki T. Erythrocyte aldose reductase correlates with erectile dysfunction in diabetic patients. *Int J Impot Res* 14, 213-216, 2002
 115. Miyashita H, Kojima M, Miki T. Ultrasonic measurement of bladder weight as a possible predictor of acute urinary retention in men with lower urinary tract symptoms suggestive of benign prostatic hyperplasia. *Ultrasound Med Biol* 28, 985-990, 2002
 116. Kanemitsu N, Kawauchi A, Nishida M, Tanaka Y, Mizutani Y, Shirahama S, Miki T. Familial central diabetes insipidus detected by nocturnal enuresis. *Pediatric Nephrology* 17, 1063-1065, 2002
 117. Nonomura N, Nishimura K, Takaha N, Inoue H, Nomoto T, Mizutani Y, Nakao M, Okuyama A, Miki T. Nerve-sparing retroperitoneal lymph node dissection for advanced testicular cancer after chemotherapy. *Int J Urol* 9, 539-544, 2002
 118. Mizutani Y, Kamoi K, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T. Synergistic cytotoxicity and apoptosis of JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, and 5-fluorouracil against bladder cancer. *J Urol* 168, 2650-2654, 2002
 119. Tanaka Y, Kawauchi A, Yoneda K, Naitoh Y, Yamao Y, Iwasaki H, Mizutani Y, Miki T. Vesicoureteral Reflux Detected among Patients with Nocturnal Enuresis. *Eur Urol* 43, 80-83, 2003
 120. Kawauchi A, Fujito A, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Hand assisted retroperitoneoscopic nephroureterectomy : comparison with the open procedure. *J Urol* 69, 890-894, 2003
 121. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Nonomura M, Nakao M, Miki T. Significance of thymidylate synthase activity in renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 9, 1453-1460, 2003
 122. Nakanishi H, Mizutani Y, Kawauchi A, Ukimura O, Shiraishi T, Hatano M, Mizuno M, Yoshida J, Miki T. Significant antitumoral activity of cationic multilamellar liposomes containing human interferon- β gene against human renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 9, 1129-1135, 2003
 123. Nakanishi H, Mazda O, Satoh E, Asada H, Morioka H, Kishida T, Nakao M, Mizutani Y, Kawauchi A, Kita M, Imanishi J, Miki T. Nonviral genetic transfer of Fas ligand induced significant growth suppression and apoptotic tumor cell death in prostate cancer in vivo. *Gene Therapy* 10, 434-442, 2003
 124. Tanaka Y, Koyama Y, Kayama Y, Kawauchi A, Ukimura O, Miki T. Firing of micturition center neurons in the rat mesopontine tegmentum during urinary bladder contraction. *Brain Res* 965, 146-154, 2003
 125. Kawauchi A, Fujito A, Soh J, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Laparoscopic correction of vesicoureteral reflux using the Lich-Gregoir technique : Initial experience and technical aspects. *Int J Urol* 10, 90-93, 2003
 126. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Nakao M, Miki T. Significance of thymidine kinase activity in renal cell carcinoma. *J Urol* 169, 706-709, 2003
 127. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Nakanishi H, Nakao M, Miki T. Significance of dihydropyrimidine dehydrogenase activity in renal cell carcinoma. *Eur J Cancer* 39, 541-547, 2003
 128. Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y, Ukimura O, Kawauchi A, Sakai T, Baba M, Okuyama T, Nishino H, Miki T. Isoliquiritigenin Inhibits the Growth of Prostate Cancer. *Eur Urol* 43, 580-586, 2003
 129. Kawauchi A, Tanaka Y, Naito Y, Yamao Y, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Bladder capacity at the time of enuresis. *Urology* 61, 1016-1018, 2003
 130. Ito T, Nakamura T, Suzuki K, Takagi T, Toba T, Hagiwara A, Kihara K, Miki T, Yamagishi H, Shimizu Y. Regeneration of hypogastric nerve using a polyglycolic acid (PGA)-collagen nerve conduit filled with collagen

- sponge proved electrophysiologically in a canine model. *Int J Artificial Organs* 26, 245-251, 2003
131. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Kawauchi A, Nakao M, Miki T. The significance of thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor activity in renal cell carcinoma. *Cancer* 98, 730-736, 2003
 132. Naya Y, Mizutani Y, Ochiai A, Soh J, Kawauchi A, Fujito A, Nakamura N, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Marumo K, Murai M, Miki T. Preliminary report of association of chronic diseases and erectile dysfunction in middle-aged men in Japan. *Urology* 62, 532-536, 2003
 133. Okihara K, Ukimura O, Mizutani Y, Kawauchi A, Nakao M, Miki T. Prostate cancer detection using power Doppler imaging. *Drugs Today* 39, 389-398, 2003
 134. Naito Y, Kawauchi A, Mizutani Y, Ukimura O, Fujito A, Nakao M, Kojima Y, Nonomura N, Okuyama A, Miki T. Significant antitumor effect of intratumoral ethanol injection on renal cell carcinoma. *Eur Urol*, in press, 2003
 135. Kawauchi A, Fujito A, Naito Y, Soh J, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Retroperitoneoscopic heminephroureterectomy for children with duplex anomaly: Initial experience. *Int J Urol*, in press, 2003

② 高羽夏樹 京都府立医科大学腫瘍薬剤制御学講座・准教授

1. Taira E, Takaha N, Miki N. Extracellular matrix proteins with neurite promoting activity and their receptors. *Neurosci Res* 17,1-8, 1993
2. Taira E, Takaha N, Taniura H, Kim CH, Miki N. Molecular cloning and functional expression of gicerin, a novel cell adhesion molecule that binds to neurite outgrowth factor. *Neuron* 12, 61-872, 1994
3. Taira E, Nagino T, Taniura H, Takaha N, Kim CH, Kuo CH, Li BS, Higuchi H, Miki N. Expression and functional analysis of a novel isoform of gicerin, an immunoglobulin superfamily cell adhesion molecule. *J Biol Chem* 270, 28681-28687, 1995
4. Takaha N, Taira E, Taniura H, Nagino T, Tsukamoto Y, Matsumoto T, Kotani T, Sakuma S, Miki N. Expression of gicerin in development, oncogenesis and regeneration of the chick kidney. *Differentiation* 58, 313-320, 1995
5. Tsukamoto Y, Taira E, Kotani T, Yamate J, Wada S, Takaha N, Miki N, Sakuma S. Involvement of gicerin, a cell adhesion molecule, in tracheal development and regeneration. *Cell Growth Differ* 7, 1761-1767, 1996
6. Tsukamoto Y, Matsumoto T, Taira E, Kotani T, Yamate J, Takaha N, Tatesaki R, Namikawa T, Miki N, Sakuma S. Adhesive activity of gicerin, a cell-adhesion molecule, in kidneys and nephroblastomas of chickens. *Cell Tissue Res* 292, 137-142, 1998
7. Miki T, Nonomura N, Takaha N, Nishimura K, Kojima Y, Sawada M, Okuyama A. Antitumor effect of irinotecan hydrochloride (CPT-11) on human renal tumors heterotransplanted in nude mice. *Int J Urol* 5, 370-373, 1998
8. Nonomura N, Nishimura K, Ono Y, Fukui T, Harada Y, Takaha N, Takahara S, Okuyama A. Soluble Fas in serum from patients with renal cell carcinoma. *Urology* 55, 151-155, 2000
9. Nonomura N, Ono Y, Nozawa M, Fukui T, Harada Y, Nishimura K, Takaha N, Takahara S, Okuyama A. Bacillus Calmette-Guerin perfusion therapy for the treatment of transitional cell carcinoma in situ of the upper urinary tract. *Eur Urol* 38, 701-704; discussion 705, 2000
10. Nishimura K, Nonomura N, Yasunaga Y, Takaha N, Inoue H, Sugao H, Yamaguchi S, Ukimura O, Miki T, Okuyama A. Low doses of oral dexamethasone for hormone-refractory prostate carcinoma. *Cancer* 89, 2570-2576, 2000
11. Nishimura K, Nonomura N, Ono Y, Nozawa M, Fukui T, Harada Y, Imazu T, Takaha N, Sugao H, Miki T, Okuyama A. Oral combination of cyclophosphamide, uracil plus tegafur and estramustine for hormone-refractory prostate cancer. *Oncology* 60, 49-54, 2001
12. Takaha N, Hawkins AL, Griffin CA, Isaacs WB, Coffey DS. High mobility group protein I(Y): a candidate architectural protein for chromosomal rearrangements in prostate cancer cells. *Cancer Res* 62, 647-651, 2002
13. Nonomura N, Nishimura K, Takaha N, Inoue H, Nomoto T, Mizutani Y, Nakao M, Okuyama A, Miki T. Nerve-sparing retroperitoneal lymph node dissection for advanced testicular cancer after chemotherapy. *Int J Urol* 9, 539-544, 2002
14. Leman ES, Madigan MC, Brunagel G, Takaha N, Coffey DS, Getzenberg RH. Nuclear matrix localization of high mobility group protein I(Y) in a transgenic mouse model for prostate cancer. *J Cell Biochem* 88, 599-608, 2003
15. Tokizane T, Nonomura N, Nakai Y, Arai Y, Nakayama M, Shimizu K, Inoue H, Takaha N, Nishimura K,

- Okuyama A. The tumor necrosis factor gene polymorphisms in Japanese patients with bladder cancer. *Medical Journal of Osaka University* 46, 99-107, 2003
16. Takaha N, Resar LM, Vindivich D, Coffey DS. High mobility group protein HMGI(Y) enhances tumor cell growth, invasion, and matrix metalloproteinase-2 expression in prostate cancer cells. *Prostate* 60, 160-167, 2004
 17. Tsujimura A, Matsumiya K, Miyagawa Y, Takaha N, Nishimura K, Nonomura N, Mori N, Hara T, Yamaguchi S, Takahara S, Okuyama A. Relation between erectile dysfunction and urinary incontinence after nerve-sparing and non-nerve-sparing radical prostatectomy. *Urol Int* 73, 31-35, 2004
 18. Inaba M, Otani Y, Nishimura K, Takaha N, Okuyama A, Koga M, Azuma J, Kawase I, Kasayama S. Marked hyperglycemia after androgen-deprivation therapy for prostate cancer and usefulness of pioglitazone for its treatment. *Metabolism* 54, 55-59, 2005
 19. Inoue H, Nishimura K, Oka D, Nakai Y, Shiba M, Tokizane T, Arai Y, Nakayama M, Shimizu K, Takaha N, Nonomura N, Okuyama A. Prostate cancer mediates osteoclastogenesis through two different pathways. *Cancer Lett* 223, 121-128, 2005
 20. Tsujimura A, Miyagawa Y, Takao T, Matsumiya K, Nakayama M, Tsujimoto Y, Takaha N, Nishimura K, Nonomura N, Takada T, Fujioka H, Kurokawa K, Aozasa K, Okuyama A. Significance of electrostimulation in detecting neurovascular bundle during radical prostatectomy. *Int J Urol* 13, 926-931, 2006

③ 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

1. Uchida M, Watanabe H, Nakagawa Y, Fujito A, Kitamura K, Imaide Y, Kawauchi A, Yoneda K, Uehara H. Microexplosion cystolithotripsy in 130 cases. *Japanese J Endourology and ESWL* 1, 11-16, 1988
2. Kawauchi A, Watanabe H, Kaiho H, Kobayashi T, Uchida M. A case of ureteritis cystica with renal stones treated with percutaneous techniques. *Japanese J Endourology and ESWL* 2, 29-33, 1989
3. Kawauchi A, Watanabe H, Kitamori T, Imada N, Ohne T. The possibility of centripetal stimulation from the urinary bladder for vasopressin excretion. *Journal of Kyoto Prefectural University of Medicine* 102, 747-752, 1993
4. Kawauchi A, Watanabe H, Kojima M, Terasaki T, Mitsuya H, Hayase Y. Ejaculatory duct obstruction diagnosed by percutaneous vesiculography under ultrasonic guidance and treated by transurethral resection of the verumontanum. *Japanese J Endourology and ESWL* 6, 223-225, 1993
5. Watanabe H, Kawauchi A, Kitamori T, Azuma Y. Treatment system for nocturnal enuresis according to an original classification system. *Eur Urol* 25, 43-50, 1994
6. Watanabe H, Kawauchi A. Nocturnal enuresis: Social aspects and treatment perspectives in Japan. *Scandinavian J Urol and Nephrology Supplement* 163, 29-38, 1994
7. Watanabe H, Kawauchi A. Is small bladder capacity a cause of enuresis?. *Scandinavian J Urol and Nephrology Supplement* 173, 37-41, 1995
8. Kawauchi A, Kitamori T, Imada N, Tanaka Y, Watanabe H. Urological abnormalities in 1328 patients with nocturnal enuresis. *Eur Urol* 29 231-234, 1996
9. Kawauchi A, Watanabe H, Miyoshi K. Early morning urine osmolality in nonenuretic and enuretic children. *Pediatric Nephrology* 10, 696-698, 1996
10. Kawauchi A, Kitamori T, Imada N, Tanaka Y, Minami M, Watanabe H. Bladder capacity at the time of enuresis. *International Children's Continence Society -Monograph Series No.1-*. Wells Medical Limited, 51-54, 1996
11. Imada N, Kawauchi A, Kitamori T, Tanaka Y, Minami M, Watanabe H. Overnight simultaneous monitoring of electroencephalography and cystometry in sucklings and infants. *International Children's Continence Society -Monograph Series No.1-*. Wells Medical Limited, 105-107, 1996
12. Watanabe H, Imada N, Kawauchi A, Koyama Y, Shirakawa S. Physiological background of enuresis Type. A preliminary report. *Scandinavian Journal of Urology and Nephrology Supplement* 183, 7-10, 1997
13. Ukimura O, Kojima M, Inui E, Ochiai A, Naya Y, Kawauchi A, Watanabe H. Noninvasive evaluation of bladder compliance in children using ultrasound estimated bladder weight. *J Urol* 160, 1459-1462, 1998
14. Koyama Y, Imada N, Kayama Y, Kawauchi A, Watanabe H. How does the distention of urinary bladder cause arousal? *Psychiat Clin Neuros* 52, 142-145, 1998
15. Tanaka Y, Kawauchi A, Watanabe H, Imada N. Relationship between nocturnal urinary frequency and sleep disturbances in aged men. *Psychiat Clin Neuros* 52, 189-190, 1998
16. Imada N, Kawauchi A, Tanaka Y, Yamao Y, Watanabe H, Takeuchi Y. Classification based on overnight simultaneous monitoring by electroencephalography and cystometry. *Eur Urol* 33 (supplement 3), 45-48,

1998

17. Kawauchi A, Imada N, Tanaka Y, Yamao Y, Watanabe H. Effects of systematic treatment based on overnight simultaneous monitoring of electroencephalography and cystometry. *Eur Urol* 33 (supplement 3), 58-61, 1998
18. Kawauchi A, Imada N, Tanaka Y, Minami M, Watanabe H, Shirakawa S. Changes in the structure of sleep spindles and delta waves on electroencephalography in patients with nocturnal enuresis. *British J Urol* 81 (supplement 3), 72-75, 1998
19. Imada N, Kawauchi A, Tanaka Y, Watanabe H. The objective assessment of urinary incontinence in children. *British J Urol* 81 (supplement 3), 107-108, 1998
20. Yamao Y, Kawauchi A, Tanka Y, Watanabe H, Kitamori T, Imada N, Shirakawa S. Systematic treatment for nocturnal urinary frequency following a sleep-micturition chart. *Psychiat Clin Neuros* 53, 277-278, 1999
21. Watanabe H, Kawauchi A. Locus coeruleus function in enuresis. *Scand J Urol Nephrol* 33 (Suppl 202), 14-17, 1999
22. Koyama Y, Imada N, Kawauchi A, Kayama Y. Firing of putative cholinergic neurons and micturition center neurons in the rat laterodorsal tegmentum during distention and contraction of urinary bladder. *Brain Res* 840, 45-55, 1999
23. Kawauchi A, Tanaka Y, Soh J, Ukimura O, Kojima M, Miki T. Causes of nocturnal urinary frequency and reasons for its increase with age in healthy older men. *J Urol* 163, 81-84, 2000
24. Inaba M, Fushiki S, Yaoi T, Iwata T, Kamoi K, Okihara K, Ukimura O, Kawauchi A, Miyashita H, Kojima M, Miki T. Changes in extracellular matrix components of bladder detrusor in relation to bladder hypertrophy and compliance in patients with benign prostatic hyperplasia. *Acta Histochem Cytochem* 33, 131-139, 2000
25. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Jodo E, Kayama Y, Miki T. Are micturition systems influenced by sleep-arousal system? *Psychiat Clin Neuros* 54, 259-261, 2000
26. Imada N, Koyama Y, Kawauchi A, Watanabe H, Kayama Y. State dependent responsiveness of the locus coeruleus to bladder distention. *J Urol* 164, 1740-1744, 2000
27. Iwata T, Ukimura O, Tsuchihashi Y, Watanabe M, Kawauchi A, Kojima M, Miki T. Points of technique and case reports on the Web : A case of primary malignant melanoma of the prostate. *BJU Int* 85, 1154, 2000
28. Kawauchi A, Yamao Y, Ukimura O, Kamoi K, Soh J, Miki T. Evaluation of reflux kidney using renal resistive index. *J Urol* 165, 2010-2012, 2001
29. Kawauchi A, Tanaka Y, Yamao Y, Inaba M, Kanazawa M, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Follow up study of bedwetting from 3 to 5 years of age. *Urology* 58, 771-776, 2001
30. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Kayama Y, Miki T. Discrete regions in the laterodorsal segmental area of the rat regulating the urinary bladder and external urethral sphincter. *Brain Res* 912, 162-170, 2001
31. Mizutani Y, Wada H, Fukushima M, Yoshida O, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T. The significance of dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) activity in bladder cancer. *Eur J Cancer* 37, 569-575, 2001
32. Nakamura T, Mitsui S, Okui A, Kominami K, Nomoto T, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T, Yamaguchi N. Alternative splicing isoforms of hippostasin (PRSS20/KLK11) in prostate cancer cell lines. *Prostate* 49, 72-78, 2001
33. Inaba M, Ukimura O, Kawauchi A, Iwata T, Kanazawa M, Ushijima S, Ochiai A, Kojima M, Miki T. Possible use of ultrasound -estimated bladder weight in evaluating vesicoureteral reflux in children. *Ultrasound in Medicine and Biology* 27, 1481-1484, 2001
34. Yamao Y, Koyama Y, Kawauchi A, Jodo E, Kayama Y, Miki T. Sleep-Wake Mechanism 'Are micturition systems influenced by sleep-arousal system?' *Psychiatry and Clinical Neurosciences* 54, 259-261, 2001
35. Kawauchi A, Takahara S, Sada M, Goto R, Nakatani T, Miki T. Susceptibility to vesicoureteral reflux in Japanese is linked to HLA-DR antigen. *Urology* 58, 1036-1039, 2001
36. Mizutani Y, Sato N, Kawauchi A, Nonomura N, Fukushima M, Miki T. Cisplatin-induced in vivo differentiation of human embryonal carcinoma. *BJU Int* 89, 454-458, 2002
37. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Bonavida B, Kawauchi A, Miki T. Prognostic significance of a combination of thymidylate synthase and dihydropyrimidine dehydrogenase activities in grade 1 and 2 superficial bladder cancer. *Oncol Rep* 9, 289-292, 2002
38. Kawauchi A, Yamao Y, Nakanishi H, Naito Y, Tanaka Y, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Relationships between nocturnal urinary volume, bladder capacity and nocturia with and without water load in nonenuretic children. *Urology* 59, 433-437, 2002
39. Tanaka Y, Koyama Y, Jodo E, Kayama Y, Kawauchi A, Ukimura O, Miki T. Effects of the acupuncture to the

- sacral segment on the bladder activity and EEG. *Psychiatry and Clin Neurosciences* 56, 249-250, 2002
40. Naya Y, Soh J, Ochiai A, Mizutani Y, Ushijima S, Kamoi K, Ukimura O, Kawauchi A, Fujito A, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Imada N, Marumo K, Murai M, Miki T. Significant decrease of the international index of erectile function in male renal failure patients treated with hemodialysis. *Int J Impot Res* 14, 172-177, 2002
 41. Kawauchi A, Fujito A, Ukimura O, Soh J, Mizutani Y, Imaide Y, Miki T. Hand-assisted retroperitoneoscopic radical nephrectomy : Initial experience. *Int J of Urol* 9, 480-484, 2002
 42. Honjo H, Kawauchi A, Ukimura O, Soh J, Mizutani Y, Miki T. Treatment of monosymptomatic nocturnal enuresis by acupuncture : A preliminary study. *Int J Urol* 9, 672-676, 2002
 43. Mizutani Y, Yoshida O, Ukimura O, Kawauchi A, Bonavida B, Miki T. Prognostic significance of a combination of soluble Fas and soluble Fas ligand in the serum of patients with Ta bladder cancer. *Cancer Biother. Radio* 17, 563-567, 2002
 44. Naya Y, Soh J, Ochiai A, Mizutani Y, Kawauchi A, Fujito A, Ushijima S, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Imada N, Nakamura N, Yabe-Nishimura C, Miki T. Erythrocyte aldose reductase correlates with erectile dysfunction in diabetic patients. *Int J Impot Res* 14, 213-216, 2002
 45. Kanemitsu N, Kawauchi A, Nishida M, Tanaka Y, Mizutani Y, Shirahama S, Miki T. Familial central diabetes insipidus detected by nocturnal enuresis. *Pediatric Nephrology* 17, 1063-1065, 2002
 46. Mizutani Y, Kamoi K, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T. Synergistic cytotoxicity and apoptosis of JTE-522, a selective cyclooxygenase-2 inhibitor, and 5-fluorouracil against bladder cancer. *J Urol* 168, 2650-2654, 2002
 47. Tanaka Y, Kawauchi A, Yoneda K, Naitoh Y, Yamao Y, Iwasaki H, Mizutani Y, Miki T. Vesicoureteral Reflux Detected among Patients with Nocturnal Enuresis. *Eur Urol* 43, 80-83, 2003
 48. Kawauchi A, Tanaka Y, Naito Y, Yamao Y, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Bladder capacity at the time of enuresis. *Urology* 61, 1016-1018, 2003
 49. Kawauchi A, Fujito A, Soh J, Ukimura O, Mizutani Y, Miki T. Laparoscopic correction of vesicoureteral reflux using the Lich-Gregoir technique : Initial experience and technical aspects. *Int J Urol* 10, 90-93, 2003
 50. Kawauchi A, Fujito A, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Hand assisted retroperitoneoscopic nephroureterectomy: comparison with the open procedur. *J Urol* 169, 890-894, 2003
 51. Nakanishi H, Mizutani Y, Kawauchi A, Ukimura O, Shiraiishi T, Hatano M, Mizuno M, Yoshida J, Miki T. Significant antitumoral activity of cationic multilamellar liposomes containing human interferon- β gene against human renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 9, 1129-1135, 2003
 52. Nakanishi H, Mazda O, Satoh E, Asada H, Morioka H, Kishida T, Nakao M, Mizutani Y, Kawauchi A, Kita M, Imanishi J, Miki T. Nonviral genetic transfer of Fas ligand induced significant growth suppression and apoptotic tumor cell death in prostate cancer in vivo. *Gene Therapy* 10, 434-442, 2003
 53. Tanaka Y, Koyama Y, Kayama Y, Kawauchi A, Ukimura O, Miki T. Firing of micturition center neurons in the rat mesopontine tegmentum during urinary bladder contraction. *Brain Res* 965, 146-154, 2003
 54. Kanazawa M, Satomi Y, Mizutani Y, Ukimura O, Kawauchi A, Sakai T, Baba M, Okuyama T, Nishino H, Miki T. Isoliquiritigenin inhibits the growth of prostate cancer. *Eur Urol* 43, 580-586, 2003
 55. Mizutani Y, Wada H, Yoshida O, Fukushima M, Kawauchi A, Nakao M, Miki T. The significance of thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor activity in renal cell carcinoma. *Cancer* 98, 730-736, 2003
 56. Kawauchi A, Tanaka Y, Naito Y, Yamao Y, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Bladder capacity at the time of enuresis. *Urology* 61, 1016-1018, 2003
 57. Naya Y, Mizutani Y, Ochiai A, Soh J, Kawauchi A, Fujito A, Nakamura N, Ono T, Iwamoto N, Aoki T, Marumo K, Murai M, Miki T. Preliminary report of association of chronic diseases and erectile dysfunction in middle-aged men in Japan. *Urology* 62, 532-536, 2003
 58. Okihara K, Ukimura O, Mizutani Y, Kawauchi A, Nakao M, Miki T. Prostate cancer detection using power Doppler imaging. *Drugs Today* 39, 389-398, 2003
 59. Naito Y, Kawauchi A, Mizutani Y, Ukimura O, Fujito A, Nakao M, Kojima Y, Nonomura N, Okuyama A, Miki T. Significant antitumor effect of intratumoral ethanol injection on renal cell carcinoma. *Eur Urol*, in press, 2003
 60. Kawauchi A, Fujito A, Naito Y, Soh J, Ukimura O, Yoneda K, Mizutani Y, Miki T. Retroperitoneoscopic heminephroureterectomy for children with duplex anomaly : Initial experience. *Int J Urol*, in press, 2003

④ 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

1. Okihara K, Watanabe M, Saitoh M, Ohe H, Watanabe H. Kinetic analysis of focal hypoechoic lesion in the prostate treated by castration. *Prostate* 24, 252-256, 1994

2. Kojima M, Naya Y, Okihara K, Watanabe M, Watanabe H. Doppler resistive index as a new urodynamic parameter in assessing benign prostatic hyperplasia. *Neurourol Urodyn* 16, 457-458, 1997
3. Okihara K, Kojima M, Naya Y, Iida A, Watanabe M, Watanabe H. Ultrasonic power Doppler imaging for prostatic cancer : A preliminary report. *Tohoku J Exp Med* 182, 277-281, 1997
4. Kojima M, Watanabe H, Watanabe M, Okihara K, Naya Y, Ukimura O. Preliminary results of power Doppler imaging in benign prostatic hyperplasia. *Ultrasound in Med&Biol* 23, 1305-1309, 1997
5. Okihara K, Watanabe H, Saitoh M, Kojima M. Kinetic analysis of prostatic volume and prostate specific antigen (PSA) in patients with advanced prostatic cancer treated by castration. *Tohoku J Exp Med* 185, 37-44, 1998
6. Ukimura O, Inui E, Ochiai A, Naya Y, Okihara K, Kojima M. Transrectal ultrasonic monitoring of the prostate at voiding with reference to anterior fibromuscular stroma. *Neurourol Urodyn* 17, 377-379, 1998
7. Okihara K, Watanabe H, Kojima M. Kinetic study of tumor blood flow in prostatic cancer using power Doppler imaging. *Ultrasound in Med&Biol* 25, 89-94, 1999
8. Okada K, Yokoyama K, Nakanouchi T, Okihara K, Ukimura O, Nakao M, Kojima M, Miki T, Takamatsu T. Immunohistochemical analysis of thymidine phosphorylase/platelet-derived endothelial cell growth factor in prostate cancer in relation to angiogenesis. *Proceedings of the 10th workshop on prostate cancer*. Tokyo, 23-25, 1999
9. Okihara K, Nakamura J, Kojima M, Watanabe H. Development of new technique for prostatic biopsy - Power Doppler guided prostatic biopsy. *Proceedings of 4th seminar of the International Cooperative study of diagnostic Ultrasound and Prostate Cancer*, 85-87, 1999
10. Okihara K, Watanabe H, Nakamura J, Kojima M. Kinetic study of tumor blood flow in prostatic cancer using power Doppler imaging. *Proceedings of 4th seminar of the International Cooperative study of diagnostic Ultrasound and Prostate Cancer*, 143-145, 1999
11. Nakamura J, Kojima M, Nakanouchi T, Okihara K, Ukimura O, Nakao M, Miki T. Significant changes in transrectal ultrasonic measurements of the prostate in relation to the degree of rectal wall distension. *Ultrasound in Med&Biol* 26, 29-34, 2001
12. Kojima M, Ochiai A, Naya Y, Okihara K, Ukimura O, Miki T. Doppler resistive index in benign prostatic hyperplasia : Correlation with ultrasonic appearance of the prostate and infravesical obstruction. *Acta Histochem Cytochem* 33, 131-139, 2000
13. Okihara K, Kojima M, Nakanouchi T, Okada K, Miki T. Transrectal power Doppler imaging in the detection of prostate cancer. *BJU Int* 85, 1053-1057, 2000
14. Okada K, Yokoyama K, Okihara K, Ukimura O, Kojima M, Miki T, Takamatsu T. Immunohistochemical localization of platelet-derived endothelial cell growth factor expression and its relation to angiogenesis in prostate. *Urology* 57, 376-381, 2001
15. Okihara K, Babaian RJ. Improving prostate cancer detection with prostate volume assessments. *Contemporary Urology*, 12-18, 2001
16. Okihara K, Babaian RJ. Early detection of prostate cancer is PSA a reliable option? *Tex Med* 97, 2001
17. Okihara K, Fritsche HA, Ayala a, Johnston DA, Allard WJ, Babaian RJ. Can complexed prostate specific antigen and prostatic volume enhance prostate cancer detection in men with total prostate specific antigen between 2.5 and 4.0 ng/ml. *J Urol*, 1930-1936, 2001
18. Okihara K, Miki T, Babaian RJ. Clinical efficacy of prostate cancer detection using power Doppler imaging in American and Japanese men. *J Clin Ultrasound* 30, 213-221, 2002
19. Mian BM, Troncoso P, Okihara K, Bhakamkar V, Johnston D, Reyes AO, Babaian RJ. Outcome of patients with Gleason score 8 or higher prostate cancer following radical prostatectomy alone. *J Urol* 167, 1675-1680, 2002
20. Okihara K, Ukimura O, Mizutani Y, Kawauchi A, Nakao M, Miki T. Prostate cancer detection using power Doppler imaging. *Drugs Today* 39, 389-398, 2003

⑤ 三神一哉 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・助教

1. Mikami K. Risk factors for renal cell carcinoma: a case-control study. *J. Kyoto Pref. Univ. Med.* 106:1273-1283, 1997.
2. Mikami K, Nakagawa S, Watanabe H, Ozasa K, Watanabe Y. Reproducibility of an interview questionnaire on sexual behavior in Japanese middle-aged or elderly males. *Environmental Health and Preventive Medicine*. 3: 59-62, 1998.
3. Kojima M, Kamoi K, Ukimura O, Fujito A, Nakao M, Tanaka S, Miyashita H, Iwamoto N, Ohe H, Kitamori T,

- Date S, Kitamura K, Araki H, Aoki T, Imada N, Takada H, Imaide Y, Mikami K, Uchida M, Saitoh M, Miki T. Clinical utility of ursodeoxycholic acid in preventing flutamide-induced hepatopathy in patients with prostate cancer : A preliminary study. *Int. J Urol.* 9:42-46, 2002.
4. Ozasa K, Nakao M, Watanabe Y, Hayashi K, Miki T, Mikami K, Mori M, Sakauchi F, Washio M, Ito Y, Suzuki K, Wakai K, Tamakoshi A for the JACC Study Group. Serum phytoestrogens and prostate cancer risk in a nested case-control study among Japanese men. *Cancer Sci.* 95:65-71, 2004.
 5. Mizutani Y, Matsubara H, Yamamoto K, Li YN, Mikami K, Okihara K, Kawauchi A, Bonavida B, Miki T. Prognostic significance of serum osteoprotegerin levels in patients with bladder carcinoma. *Cancer* 101:1794-1802, 2004.
 6. Ukimura O, Kawauchi A, Fujito A, Mizutani Y, Okihara K, Mikami K, Soh J, Nakamura T, Nakanishi H, Ushijima S, Miki T. Radio-frequency ablation of renal cell carcinoma in patients who were at significant risk. *Int. J Urol.* 11:1051-1057, 2004.
 7. Sakauchi F, Mori M, Washio M, Watanabe Y, Ozasa K, Hayashi K, Miki T, Nakao M, Mikami K, Ito Y, Wakai K, Tamakoshi A for the JACC Study Group. Dietary Habits and Risk of Urothelial Cancer Death in a Large-Scale Cohort Study(JACC Study) in Japan. *Nutrition and Cancer.* 50:33-39, 2004.
 8. Mizutani Y, Nakanishi H, Yamamoto K, Li YN, Matsubara H, Mikami K, Okihara K, Kawauchi A, Bonavida B, Miki T. Downregulation of Smac/DIABLO Expression in Renal Cell Carcinoma and its Prognostic Significance. *J. Clin. Oncol.* 23:448-454, 2005.
 9. Ozasa K, Nakao M, Watanabe Y, Hayashi K, Miki T, Mikami K, Mori M, Sakauchi F, Washio M, Ito Y, Suzuki K, Kubo T, Wakai K, Tamakoshi A, for the Japan collaborative cohort study group. Association of Serum Phytoestrogen Concentration and Dietary Habits in a Sample Set of the JACC Study. *J Epidemiol.* 15: S196-S202, 2005.
 10. Washio M, Mori M, Sakauchi F, Watanabe Y, Ozasa K, Hayashi K, Miki T, Nakao M, Mikami K, Ito Y, Wakai K, Tamakoshi A for the JACC Study Group. Risk Factors for Kidney Cancer in a Japanese Population : Findings from the JACC Study. *J Epidemiol.* 15: S203-S211, 2005.
 11. Ozasa K*, Ito Y, Suzuki K, Watanabe Y*, Hayashi K*, Mikami K, Nakao M, Miki T, Mori M, Sakauchi F, Washio M, Kubo T, Wakai K, Tamakoshi A for the Japan collaborative cohort study group. Serum carotenoids and other antioxidative substances associated with urothelial cancer risk in a nested case-control study in Japanese men. *J. Urol.* 173:1502-1506, 2005.
 12. Nomura K, Yamada S, Shimizu D, Okuda T, Kamitsuji Y, Yoshida N, Matsumoto Y, Wakabayashi N, Mikami K, Horiike S, Okanoue T, Taniwaki M. Successful endoscopic hemostasis for gastric arterial bleeding due to invasion of malignant lymphoma. *World Journal of Gastroenterology* 11:4285-4286, 2005.
 13. Yamagami T, Masunami T, Kato T, Tanaka O, Hirota T, Nomoto T, Mikami K, Miki T, Nishimura T. Spontaneous healing of chyle leakage after lymphangiography. *The Brit. J. Radiol.* 78:854-857. 2005.
 14. Yongnan Li, Mizutani Y, Shiraishi T, Nakamura T, Mikami K, Takaha N, Okihara K, Kawauchi A, Sakai T, Miki T. The significance of the expression of dihydropyrimidine dehydrogenase in prostate cancer. *Brit J Urol.* 99:663-668, 2006.
 15. Kubo T, Ozasa K, Mikami K, Wakai K, Fujino Y, Watanabe Y, Miki T, Nakao M, Hayashi K, Suzuki K, Mori M, Washio M, Sakauchi F, Ito Y, Yoshimura T, Tamakoshi A. Prospective cohort study of the risk of prostate cancer among totating-shift workers findings from the Japan collaborative cohort study. *Am J Epidemiol* 164:549-555, 2006.
 16. Washio M, Mori M, Khan M, Sakauchi F, Watanabe Y, Ozasa K, Hayashi K, Miki T, Nakao M, Mikami K, Ito Y, Kubo T, Wakai K, Tamakoshi A. Diabetes mellitus and kidney cancer risk: The results of Japan collaborative cohort study for evaluation of cancer risk (JACC Study). *Int. J Urol.* 14:393-397, 2007.
 17. Mizutani Y, Nakanishi H, Y N Li, Matsubara H, Yamamoto K, Sato N, Shiraishi T, Nakamura T, Mikami K, Okihara K, Takaha N, Ukimura O, Kawauchi A, Nonomura N, B Bonavida, Miki T. Overexpression of XIAP expression in renal cell carcinoma predicts a worse prognosis. *Int. J. Oncol.* 30:919-925, 2007.
 18. Okihara K, Kitamura K, Okada K, Mikami K, Ukimura O, Miki T. Ten year trend in prostate cancer screening with high prostate specific antigen exposure rate in Japan. *Int J Urol,* 15:156-160, 2008.
- ⑥ 中村晃和 京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学・助教
1. Nakamura T, Mitsui S, Okui A, Kominami K, Nomoto T, Ukimura O, Kawauchi A, Miki T, Yamaguchi N. Alternative splicing isoforms of hippostasin (PRESS20/KLK11) in prostate cancer cell lines. *Prostate* 49:72-78, 2001.
 2. Nakamura T, Scorilas A, Stephan C, Yousef GM, Kristiansen G, Jung K, Diamandis EP. Quantitative analysis

- of macrophage inhibitory cytokine-1(MIC-1) gene expression in human prostatic tissues. *Brit. J Cancer.* 88:1101-1104, 2003.
3. Stephan C, Yousef GM, Scorilas A, Jung K, Jung M, Kristiansen G, Hauptmann S, Bharaj BS, Nakamura T, Loening SA, Diamandis EP. Quantitative analysis of kallikrein 15 gene expression in prostate tissue. *J Urol.* 169:361-364, 2003.
 4. Nakamura T, Scorilas A, Stephan C, Jung K, Soosaipillai AR, Diamandis EP. The Usefulness of Serum Human Kallikrein 11 for Discriminating between Prostate Cancer and Benign Prostatic Hyperplasia. *Cancer Res.* 63:6543-6546, 2003.
 5. Nakamura T, Stephan C, Scorilas A, Yousef GM, Jung K, Diamandis EP. Quantitative analysis of hippostasin/KLK11 gene expression in cancerous and noncancerous prostatic tissues. *Urology* 61:1042-1046, 2003.
 6. Nakamura T, Mitsui S, Okui A, Miki T, Yamaguchi N. Molecular Cloning and Expression of a Variant Form of Hippostasin/KLK11 in Prostate. *Prostate* 54:229-305, 2003.
 7. Ukimura O, Kawauchi A, Fujito A, Mizutani Y, Okihara K, Mikami K, Soh J, Nakamura T, Nakanishi H, Ushijima S, Miki T. Radio-frequency ablation of renal cell carcinoma in patients who were at significant risk. *Int. J Urol.* 11:1051-1057, 2004.
 8. Stephan C, Yousef GM, Scorilas A, Jung K, Jung M, Kristiansen G, Hauptmann S, Kishi T, Nakamura T, Loening SA, Diamandis EP. Hepsin is highly over expressed in and a new candidate for a prognostic indicator in prostate cancer. *J Urol.* 171:187-191, 2004.
 9. Okihara K, Ukimura O, Nakamura T, Mizutani Y, Kawauchi A, Naya Y, Uchida M, Ogiwara T, Miki T. Can complexed prostate specific antigen enhance prostate cancer detection in Japanese men? *Euro Urol.* 46:57-64, 2004.
 10. Okihara K, Nakanishi H, Nakamura T, Mizutani Y, Kawauchi A, Miki T. Clinical characteristics of prostate cancer in Japanese men in the eras before and after serum prostate-specific antigen testing. *Int. J Urol.* 12:662-667, 2005.
 11. Stephan C, Xu C, Brown DA, Breit SN, Michael A, Nakamura T, Diamandis EP, Meyer H, Commann H, Jung K. Three new serum markers for prostate cancer detection within a percent free PSA -based artificial neural network. *Prostate* 66:651-659, 2006.
 12. Stephan C, Jung K, Nakamura T, Karakucuk T, Diamandis EP. Serum human glandular kallikrein 2(hK2) for distinguishing stage and grade of prostate cancer. *Int J urol.* 13:238-243, 2006.
 13. Memari N, Grass L, Nakamura T, Karakucuk I, Diamandis EP. Human tissue kallikrein 9:production of recombinant proteins and specific antibodies. *Biol Chem.* 387:733-740, 2006.
 14. Stephan C, Meyer HA, Cammann H, Nakamura T, Diamandis EP, Jung K. Improved prostate cancer detection with a human kallikrein 11 and percentage free PSA based artificial neural network. *Biol Chem.* 387:801-806, 2006.
 15. Mitui S, Nakamura T, Okui A, Kominami K, Ueda H, Yamaguchi N. Multiple promoters regulate tissue-specific alternative splicing of the human kallikrein gene, KLK11/hippostasin. *FEBS J.* 273:3678-3683, 2006.
 16. Yongnan Li, Mizutani Y, Shiraishi T, Nakamura T, Mikami K, Takaha N, Okihara K, Kawauchi A, Sakai T, Miki T. The significance of the expression of dihydropyrimidine dehydrogenase in prostate cancer. *Brit. J Urol.* 99:663-668, 2006.
 17. Okihara K, Ukimura O, Nakamura T, Ushijima S, Mizutani Y, Kawauchi A, Naya Y, Kojima M, Miki T. Complexed PSA improves prostate cancer detection: Results from a multicenter Japanese clinical trial. *Urology* 67:328-332, 2006.
 18. Mizutani Y, Nakanishi H, Li Y N, Matsubara H, Yamamoto K, Sato N, Shiraishi T, Nakamura T, Mikami K, Okihara K, Takaha N, Ukimura O, Kawauchi A, Nonomura N, B Bonavida, Miki T. Overexpression of XIAP expression in renal cell carcinoma predicts a worse prognosis. *Int J Oncol.* 30:919-925, 2007.
 19. ⑦ 山上卓士 京都府立医科大学大学院医学研究科放射線診断治療学・講師
 1. Yamagami T, Yuen S, Sawai K, Nishimura T. MR imaging-guided axillary node biopsy for breast cancer: initial findings. *Eur Radiol.* 2004 Jan; 14(1): 151-156
 2. Yamagami T, Kato T, Iida S, Tanaka O, Nishimura T. Value of transcatheter arterial embolization with coils and n-butyl cyanoacrylate for long-term hepatic arterial infusion chemotherapy. *Radiology* 2004; 230: 792-802
 3. Hirota T, Yamagami T, Nakamura T, Okuyama C, Ushijima Y, Nishimura T. Small pulmonary arteriovenous

- fistulae revealed by scintigraphy during selective injection of ⁹⁹Tc(m)-macroaggregated albumin. *Br J Radiol.* 2004 May;77(917):445-8.
4. Nakai T, Ono K, Terayama K, Yamagami T, Nishimura T. Adenosquamous carcinoma of the liver successfully treated with repeated transcatheter arterial infusion chemotherapy (TACE) with degradable starch microspheres. *Br J Radiol.* 2004 Jun;77(918):516-8.
 5. Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota T, Nishimura T. Interventional Radiologic Treatment for Hepatic Arterial Occlusion after Repeated Hepatic Arterial Infusion Chemotherapy via Implanted Port-Catheter System. *J Vasc Interv Radiol.* 2004 Jun;15(6):633-9.
 6. Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota T, Nishimura T. Percutaneous needle biopsy for small lung nodules beneath the rib under CT scan fluoroscopic guidance with gantry tilt. *CHEST* 2004; 126: 744-747
 7. Hirota T, Yamagami T, Matsumoto T, Seo H, Tanaka O, Iida S, Kato T, Nishimura T. Intrahepatic portosystemic venous shunt passing through the left inferior phrenic vein and draining into the left renal vein. *Br J Radiol.* 2004 Nov;77(923):966-8.
 8. Mano T, Tatsumi T, Sakai H, Imoto Y, Nomura T, Nishikawa S, Takeda M, Kobara M, Yamagami T, Matsubara H. A case of deep venous thrombosis with a double inferior vena cava effectively treated by suprarenal filter implantation. *Jpn Heart J.* 2004 Nov;45(6):1063-1069.
 9. Yamagami T, Kato T, Iida S, Tanaka O, Nishimura T. Efficacy of the left gastric artery as a route for catheterization of the right gastric artery. *AJR Am J Roentgenol.* 2005 Jan;184(1):220-4.
 10. Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota H, Nishimura T. Management of end hole in placement of port-catheter system for continuous hepatic arterial infusion chemotherapy using the fixed catheter tip method. *AJR Am J Roentgenol.* 2005 Apr;184(4):1332-9.
 11. Yamagami T, Kato T, Tanaka O, Hirota H, Ito K, Nishimura M, Shimada J, Nishiyama K, Nishimura T. Percutaneous Needle Biopsy under CT Fluoroscopic Guidance for Cardiac Tumor during Continuous Intravenous Injection of Contrast Material. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Apr;16(4):559-61.
 12. Yamagami T, Kato T, Tanaka O, Hirota H, Nishimura T. Radiofrequency ablation therapy of remnant colorectal liver metastases after a course of hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Apr;16(4):549-54.
 13. Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota H, Yoshimatsu R, Nishimura T. Efficacy of Manual Aspiration Immediately after Complicated Pneumothorax in CT-guided Lung Biopsy. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Apr;16(4):477-83.
 14. Hirota T, Yamagami T, Tanaka O, Iida S, Kato T, Nishimura T. Catheter redundancy in the aortic arch increases the risk of stroke in left subclavian arterial port-catheter systems. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Apr;16(4):471-6.
 15. Yamagami T, Kato T, Tanaka O, Hirota H, Nishimura T. Influence of extrahepatic arterial inflow into the posterior segment or caudate lobe of the liver on repeated hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Apr;16(4):457-63.
 16. Kato T, Yamagami T, Iida S, Tanaka O, Hirota H, Nishimura T. Percutaneous drainage under real-time computed tomography-fluoroscopy guidance. *Hepatogastroenterology* 2005 Jul-Aug;52(64):1048-52.
 17. Yamagami T, Kato T, Nishimura T. Movement of the side hole occurring in a port-catheter system percutaneously implanted for hepatic arterial infusion chemotherapy. *Australas Radiol* 2005 Dec;49(6):508-11
 18. Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota H, Nishimura T. Gunther Tulip Inferior Vena Cava Filter Placement During Treatment for Deep Venous Thrombosis of the Lower Extremity. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 2005 Jul-Aug; 28 (4): 442-453
 19. Yamagami T, Masunami T, Kato T, Tanaka O, Hirota H, Nomoto T, Mikami K, Miki T, Nishimura T. Spontaneous healing of chyle leakage after lymphangiography. *Br J Radiol.* 2005 Sep;78(933):854-7.
 20. Tanaka O, Ito H, Yamada K, Kubota T, Kizu O, Kato T, Yamagami T, Nishimura T. Higher lesion conspicuity for SENSE dynamic MRI in detecting hypervascular hepatocellular carcinoma: analysis through the measurements of liver SNR and lesion-liver CNR comparison with conventional dynamic MRI. *Eur Radiol.* 2005 Jul 23;
 21. Yamagami T, Kato T, Tanaka O, Hirota H, Nishimura T. Influence of hepatopetal flow of the retroportal artery on efficiency of repeated hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Oct;16(10):1391-5.
 22. Yamagami T, Kato T, Nishimura T. Successful retrieval of Gunther tulip vena cava filter with the assistance of curved sheath introducer. *J Vasc Interv Radiol* 2005 Dec;16(12):1760-2

23. Yamagami T, Iida S, Kato T, Takegi T, Nishimura T. Percutaneous transluminal angioplasty for hepatic arterial occlusion following hepatic arterial infusion chemotherapy. *Australas Radiol* 2006; 50: 82-86
24. Yamagami T, Iida S, Kato T, Hirota T, Nishimura T. Spontaneous regression of gastric varices after iatrogenic injury to a gastro-renal shunt. *Australas Radiol* 2006 50, 75-78.
25. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Withdrawal of port-catheter system for hepatic arterial infusion chemotherapy implanted with fixed catheter tip method. *J Vasc Interv Radiol*. 2006 Apr;17(4):651-6
26. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Prophylactic implantation of inferior vena cava filter during interventional radiological treatment for deep venous thrombosis of the lower extremity. *Br J Radiol* 2006 Jul;79(943):584-591
27. Yamagami T; Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Usefulness and limitation of manual aspiration immediately after pneumothorax complicating interventional radiological procedures with the transthoracic approach. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2006 Nov-Dec;29(6):1027-33.
28. Yamagami T, Takeuchi Y, Sonoyama T, Nakao N, Kato T, Ochiai T, Ichikawa D, Yamagishi H, Nishimura T. Non-cavernomatous superior mesenteric thrombosis successfully recanalized with interventional radiological procedures carried out with a combination transmesenteric and transjugular approaches. *Australas Radiol*. 2006 Oct;50(5):495-9
29. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Duration of pneumothorax as a complication of CT-guided lung biopsy. *Australas Radiol*. 2006 Oct;50(5):435-41.
30. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. A simplified method for continuous hepatic arterial port-catheter system placement not requiring catheter end hole occlusion. *Acta Radiol*. 2006 Oct;47(8):775-9
31. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Pneumothorax as a complication of percutaneous radiofrequency ablation for lung neoplasms. *J Vasc Interv Radiol*. 2006 Oct;17(10):1625-9.
32. Yoshimatsu R, Takeuchi Y, Morishita H, Iida N, Okabe H, Yamagami T, Nishimura T. Successful embolisation of intrahepatic portosystemic venous shunt using coils and n-butyl cyanoacrylate through two approach routes. *Br J Radiol*. 2006 Nov;79(947):e162-5.
33. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Use of a Pull-through Technique at the Time of Port-Catheter Implantation in Cases of Celiac Arterial Stenosis. *J Vasc Interv Radiol*. 2006 Nov;17(11):1839-44
34. Tanaka O, Hashimoto S, Narimatsu Y, Fujiwara H, Kurata T, Okuda S, Yamagami T, Nishimura T, Hiramatsu K, Kuribayashi S. Can selective CT angiography reduce the incidence of severe complications during transcatheter arterial embolization or infusion chemotherapy for thoracic diseases? *Diagn Interv Radiol*. 2006 Dec;12(4):201-5.
35. Tanaka O, Ishihara K, Oyamada H, Harusato A, Yamaguchi T, Ozawa M, Nakano K, Yamagami T, Nishimura T. Successful Portal-Systemic Shunt Occlusion with Balloon-occluded Retrograde Transvenous Obliteration for Portosystemic Encephalopathy without Liver Cirrhosis. *J Vasc Interv Radiol*. 2006 Dec;17(12):1951-5.
36. Yamagami T, Kanda K, Kato T, Hirota T, Nishida K, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Embolisation of proximal anastomotic pseudoaneurysm developing after surgical repair of abdominal aortic aneurysm with a bifurcated graft with n-butyl cyanoacrylate. *Br J Radiol*. 2006 Dec;79(948):e193-5.
37. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Evaluation of retrievability of the Gunther tulip vena cava filter. *Cardiovasc Intervent Radiol*. 2007 Mar-Apr;30(2):226-31.
38. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Embolization of accessory left gastric artery to prevent acute gastric mucosal lesions in patients undergoing repeated hepatic arterial infusion chemotherapy. *Acta Radiol* 2007;48:280-284.
39. Matsumoto T, Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Nishimura T. Transcatheter arterial embolisation of a ruptured pseudoaneurysm of the lingual artery with n-butyl cyanoacrylate. *Br J Radiol*. 2007 Feb;80(950):e54-7.
40. Yoshimatsu R, Yamagami T, Kato T, Hirota T, Matsumoto T, Nishimura T. Percutaneous transluminal angioplasty using a pull-through technique for hepatic arterial occlusion at the time of port-catheter implantation. *Br J Radiol*. 2007 Feb;80(950):e33-7.
41. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Infusion of 50% glucose solution before injection of ethanolamine oleate during balloon-occluded retrograde transvenous obliteration. *Australas Radiol* 2007; 51: 334-338.

42. Yamagami T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Terayama K, Nishimura A, Maeda Y, Nishimura T. Successful embolization using interlocking detachable coils for a congenital extrahepatic portosystemic venous shunt in a child. *J Pediatr Surg.* 2007 Nov;42(11):1949-52.
43. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Implantation of a port-catheter system through the superior mesenteric artery for repeated hepatic arterial infusion chemotherapy. *J Vasc Interv Radiol* 2007;18:1595-1600
44. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Shimada J, Nishimura T. Risk factors for occurrence of local tumor progression after percutaneous radiofrequency ablation for lung neoplasms. *Diagn Interv Radiol.* 2007 Dec;13(4):199-203.
45. Yamagami T, Kato T, Hirota T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, White RI Jr, Nishimura T. Value of Micronester coils in port-catheter implantation for continuous hepatic arterial infusion chemotherapy with fixed catheter tip method. *Eur Radiol.* 2008 Jan ;18:152-157
46. Yamagami T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Prophylactic implantation of inferior vena cava filter during endovascular therapies for deep venous thrombosis of the lower extremity: is it necessary? *Acta Radiol* 2008 May;49(4):391-7
47. Yamagami T, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Nishimura T. Redistribution of multiple hepatic arteries into a single hepatic artery to perform repeated hepatic arterial infusion chemotherapy. *Acta Radiol* 2008;49:513-520.
48. Yoshimatsu R, Yamagami T, Kato T, Hirota T, Matsumoto T, Shimada J, Nishimura T. Percutaneous needle biopsy of lung nodules under CT fluoroscopic guidance with use of the "I-I device" *Br J Radiol* 2008;81:107-112
49. Tanaka O, Ohno K, Ohno T, Tomioka H, Shimizu S, Yamagami T, Nishimura T. Should Balloon-Occluded Retrograde Transvenous Obliteration be the First-Line Interventional Radiologic Treatment for Bleeding Duodenal Varices? A Case Report and Review of the Literature. *Acta Radiol.* 2008;49:32-36
50. Tanaka O, Yamagami T, Kato T, Iida S, Hirota T, Nishimura T. Epinephrine-infused CTHA for HCCs. *Abdom Imaging.* 2008 May-Jun;33(3):308-12
51. Nakase Y, Takagi T, Fukumoto K, Yamagami T, Itani K, Miyagaki T. Hemobilia and cystic artery stump pseudoaneurysm associated with liver abscess after a laparoscopic cholecystectomy: Report of a case. *Surg Today.* 2008;38(6):567-71.
52. Morimoto A, Imamura T, Ishii R, Nakabayashi Y, Nakatani T, Sakagami J, Yamagami T. Successful management of severe L-asparaginase-associated pancreatitis by continuous regional arterial infusion of protease inhibitor and antibiotic. *Cancer* 2008;113:1362-9
53. Yamagami T, Terayama K, Yoshimatsu R, Matsumoto T, Miura H, Nishimura T. Use of n-butyl cyanoacrylate in percutaneous implantation of a port-catheter system for hepatic arterial infusion chemotherapy with the fixed-catheter-tip method: Is it necessary? *AJR Am J Roentgenol.* 2008 Nov;191(5):1523-9
54. Kato T, Yamagami T, Hirota T, Matsumoto T, Yoshimatsu R, Nishimura T. Transpulmonary radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma under real-time computed tomography-fluoroscopic guidance. *Hepatogastroenterology* 2008 Jul-Aug;55(85):1450-3

⑧ 若林俊彦 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授

1. J Yoshida, T Wakabayashi, A Kito, N Kageyama, Y Murata, H Seo, N Kojima, K Yagi: Clinical application of monoclonal antibodies against glioma-associated antigens. *Prog Exp Tumor Res.* 30: 44-56, 1987.
2. J Yoshida, K Kato, T Wakabayashi, K Kageyama: Antitumor activity of interferon- β against malignant glioma in combination with chemotherapeutic agent of nitrosourea (ACNU); The biology of the interferon system 1986, Martinus Nijhoff Publishers, 1987, pp399-406
3. T Wakabayashi, J Yoshida, H Seo, K Kato, Y Murata, N Matsui, N Kageyama: Characterization of neuroectodermal antigen defined by a monoclonal antibody and its application for the CSF diagnosis of human glioma. *J Neurosurg* 68: 449-455, 1988.
4. J Yoshida, Yamamoto R, T Wakabayashi, Nagata M, and Seo H:
5. Radioimmunoassay of glioma-associated antigen in cerebrospinal fluid and its usefulness for the diagnosis and monitoring of human glioma. *J Neuro-Oncology* 8; 23-31, 1990.
6. J Yoshida, Mizuno M, Inoue I, T Wakabayashi, Sugita K, Seo H, and Chiba K; Radioimaging of human glioma xenografts with ^{125}I labeled monoclonal antibody G-22 against glioma-associated antigen. *J Neuro-Oncology* 8: 221-229, 1990.

7. J Yoshida, T Wakabayashi, Mizuno M, Oyama H, Nehashi K, Sugita K; The interaction between cytokines and growth factors on the growth of glioma cells. In Tabuchi k. (ed) "Biological Aspect of Brain Tumors" Springer-verlag, Tokyo, 1991, pp200-206.
8. J Yoshida, T Wakabayashi, M Mizuno, K Sugita, Tazuka Yoshida, Shigeaki Hori, Teruaki Mori, Tomohiko Sato, Atsushi Karashima, Kaoru Kurisu, Kiya katuzo, Tohru Uozumi; Clinical effect of intra-arterial tumor necrosis factor- α for malignant glioma J Neurosurg. 77, 78-83, 1992.
9. J Yoshida, T Wakabayashi, M Mizuno, K Sugita, H Seo, M Ohshima, M Tadokoro, S Sakuma; Tumor-specific binding of radiolabeled G-22 monoclonal antibody in glioma patients. Neurol Med Chir (Tokyo) 32(3), 125-129, 1992
10. L Sipos, T Wakabayashi, G T. Szeifert, I Fazekas, D Afra;
11. Characterization of human gliomas by a monoclonal antibody both on tissue culture and paraffin-embedded sections. Neurological Research. 14, 263-266, 1992.
12. T Wakabayashi, J Yoshida, M Mizuno, A Kito, K Sugita: Effectiveness of interferon- γ , ACNU, and Radiation Therapy in Pediatric Patients with Brainstem Glioma. Neurol Med Chir (Tokyo) 32: 942-946, 1992
13. M Oshima, Yoshida J, T Wakabayashi, Tadokoro M, Kato T, Sakuma S: Recurrent malignant glioma: detection with ^{131}I labeled monoclonal antibody G-22, positron emission tomography and magnetic resonance imaging. Annals of Nuclear Medicine vol 7, No2, 119-122, 1993
14. T Tashiro, Yoshida J, T Wakabayashi, Sugita K, Abe H: Primary intracranial Germinoma involving the medulla Oblongata. Case Report. Neurol Med Chir (Tokyo) 33, 251-254, 1993
15. S Kimura S, Ishida S, Matunaga K, Washizu K, Hiraiwa H, Takeuchi K, T Wakabayashi, Yoshida J, Kato K.: Determination of tenascin in human serum by the use of a new enzyme immunoassay. Biomed Res, 14, 203-208, 1993
16. J Yoshida, T Kajita T Wakabayashi and K Sugita; long-term follow-up results of 175 patients with malignant glioma: Importance of radical tumour resection and postoperative adjuvant therapy with interferon, ACNU and radiation. Acta Neurochir (wien) 127, 55-59, 1994
17. J Yoshida, T Wakabayashi, S Kimura, K Washizu, K Kiyosawa, K Mokuno; Tenascin in cerebrospinal fluid is an useful biomarker for the diagnosis of brain tumor. J Neurol Neurosurg Psychi, 57, 1212-1215, 1994
18. K Washizu, Kimura S, Hiraiwa H, Yoshida J, T Wakabayashi, K Kanefusa; Development and application of enzyme immunoassay for detecting tenascin. Clin Chim Acta 219, 15-22, 1994
19. T Wakabayashi, J Yoshida, M Mizuno, K Sugita, K Itoh, M Tadokoro, M Oshima; Radioimmunolocalization of human brain tumor: Fundamental studies with indium-111 labeled monoclonal antibody G-22. Brain Tumor Pathology 11(2), 177-180, 1994.
20. U Sure, WJ Berghorn, H Bertalanffy, J Yoshida, T Wakabayashi, K Sugita, and W Seeger; Staging, Scoring and Grading of medulloblastoma; A postoperative prognosis predicting system based on the cases of a single institute. Acta Neurochir (Wien), 132: 59-65, 1995
21. K Nehashi, J Yoshida, T Wakabayashi, M Nagata, J Utsumi, N Naruse, and K Sugita: Growth inhibition of human glioma cells by superinduced human interferon- γ . Neurol Med Chir (Tokyo) 35, 719-722, 1995
22. T Wakabayashi, J Yoshida, M Ohshima, M Tadokoro, and K Sugita: Radioimaging of human glioma by indium-111 labeled G-22 anti-glioma monoclonal antibody. Brain Tumor Pathology 12(2), 105-110, 1995
23. J Yoshida, T Wakabayashi, M Mizuno, T Takaoka, S Okamoto, H Okada, K Yagi: Cytokine gene therapy of malignant glioma by means of DNA/liposomes. Brain Tumor Research and Therapy; Springer-Verlag (Tokyo) 1995.
24. T Sadatomo, Yoshida J, T Wakabayashi., Mizuno M., Harada K., Kurisu K., Uozumi T., Sugita K. New approach for the treatment of medulloblastoma by transfection with glial fibrillary acidic protein gene. Surgical Oncology, 5, 69-75, 1996
25. M Shinkai, Yanase M., Honda H., T Wakabayashi., Mizuno M., Yoshida J., Kobayashi T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposome. In vitro study. Jpn. J. Cancer Res. 1179-1183, 1996.
26. M Suzuki, Honda H., Kobayashi T., T Wakabayashi., Yoshida J., Takahashi M. Development of a target-directed magnetite resonance contrast agent using monoclonal antibody-conjugated magnetite particles. Brain Tumor Pathol., 13, 127-132, 1996.
27. H Okada, Miyamura K, Itoh T, Hagiwara M, T Wakabayashi, Mizuno M, Colosi P, Kurtzman G, Yoshida J. Gene therapy against an experimental glioma using adeno-associated virus vectors. Gene therapy, 3, 957-964, 1996

28. 26. T Wakabayashi., Yoshida J., Takaoka T., Sadatomo T., Mizuno M., Kimura S. Enzyme immunoassay of glioma cell tenascin secretion and augmentation by tumor necrosis factor- α . *Neurol med Chir (Tokyo)*, 37(5), 392-398, 1997.
29. 27. K Ichimi, Yoshida J, Inao S, T Wakabayashi. Abducens Nerve Neurinoma ;case report *Neurol med Chir (Tokyo)*, 37(2) 197-200, 1997.
30. 28. T Wakabayashi., Yoshida J., Ishiyama J, Mizuno M.: Antitumor Activity of Recombinant Human Tumor Necrosis Factor- α (rH-TNF α) and Liposome-entrapped rH-TNF α . *Neurol med Chir (Tokyo)*, 37(10), 739-746, 1997 .
31. M Yanase, Shinkai M, Honda H, T Wakabayashi, Yoshida J, Kobayashi T. Intracellular Hyperthermia for Cancer Using Magnetite Cationic Liposomes: Ex vivo Study: *Jpn. J. Cancer Res.* 88, 630-632, 1997
32. 30. M Yanase M, Shinkai M, Honda H, T Wakabayashi., Yoshida J., Kobayashi T. Intracellular Hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes: An in vivo study *Jpn. J. Cancer Res.* 89, 463-469, 1998.
33. 31. T Nagasaka, Nakashima N, Furui A, T Wakabayashi, Yoshida J. Sarcomatous transformation of pituitary adenoma after bromocriptine therapy. *Human Pathology*, 29(2) 190-193, 1998.
34. M Yanase M, Shinkai M, Honda H, T Wakabayashi., Yoshida J., Kobayashi T. Antitumor immunity induction by intracellular hyperthermia using magnetite cationic liposomes. *Jpn. J. Cancer Res.* 89, 775-782, 1998.
35. S Ohta, Yoshida J, Yamamoto S, Uemura K, T Wakabayashi, Mizuno M, Sakurai T, Terakawa S.: Video-enhanced microscopic visualization of apoptotic cell death caused by anti-Fas antibody in living human glioma cells. *Brain Tumor Pathol*, 15, 19-21, 1998.
36. N Bucur, M Mizuno, T Wakabayashi, J Yoshida: Growth inhibition of experimental glioma by human interferon- β superinduced by cationic liposomes entrapping polyinosilic:polycytidilic acid. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 38, 469-474, 1998.
37. 35. T Wakabayashi, Mizuno M, Yoshida J. Gene therapy of central nervous system tumors. *Neurol Med Chir (Tokyo)* 38, 763-771, 1998.
38. 36. M Shinkai, Yanase M, Suzuki M, Honda H, T Wakabayashi, Yoshida J, Kobayashi T: Intracellular hyperthermia for cancer using magnetite cationic liposomes *Journal of Magnetism and Magtetic Materials*, 194, 176-184, 1999
39. IA Bouhon, Shinkai M, Honda H, Mizuno M, T Wakabayashi, Yoshida J, Kobayashi T:
40. Synergism between mild hyperthermia and interferon- β gene expression. *Cancer Letters* 139, 153-158, 1999
41. 38. K Taniguchi, T Wakabayashi, Yoshida T, Mizuno M, Yoshikawa K, Kikuchi A, Nakashima N, Yoshida J: Immunohistochemical staining of DNA topoisomerase II α in human gliomas *J Neurosurg* 91: 477-482, 1999
42. Y Kajita, Miyachi S, T Wakabayashi, Inao S, Yoshida J: A dural arteriovenous fistula of the tentorium successfully treated by intravascular embolization. *Surg Neurol*, 52:294-298, 1999
43. N Hatano, T Wakabayashi, Kajita Y, Mizuno M, Ohno T, Nakayashiki N, Takemura A, Yoshida J: Efficacy of post operative adjuvant therapy with human interferon beta, MCNU and radiation (IMR) for malignant glioma: comparison among three protocols. *Acta Neurochir (Wien)* 142: 633-639, 2000
44. T Wakabayashi, Kajita Y, Hatano N, T Thompson, T Nagasaka, Yoshida J: Clinicopathological study of oligodendroglial tumors: the effectiveness of interferon β , ACNU/MCNU, and radiation (IAR/IMR) for anaplastic tumors. *Brain Tumor Pathol* 17: 29-33, 2000
45. T Wakabayashi, Kajita Y, Hatano N, Yoshida T, Mizuno M, Taniguchi K, Ohno T, T Nagasaka, Yoshida J:
46. Initial and maintenance combination treatment with interferon- β , MCNU (Ranimustine), and radiotherapy for patients with previously untreated malignant glioma, *J Neuro-Oncol* 49: 57-62, 2000
47. E Tachibana, Saito K, T Wakabayashi, Nagasaka T, Furui T, Yoshida J: Sarcomatous transformation of a prolactinoma associated with development of a fatal internal carotid artery pseudoaneurysm. case report. *Neurol med chir (Tokyo)* 40 (8), 427-431, 2000
48. T Wakabayashi, Kajita Y, Mizuno M, Nagasaka T, Yoshida J:
49. Efficacy of adjuvant therapy with procarbazine, MCNU, and vincristine for oligodendroglial tumors. *Neurol med chir (Tokyo)* (in press), 2000
50. *Neurol med chir (Tokyo)* (in press), 2000
51. N Nakayashiki, Yoshikawa K, Nakamura K, Hanai N, Okamoto K, Mizuno M, T Wakabayashi, Saga S, Yoshida J, Takahashi T: Protection of a single-chain variable fragment antibody recognizing type III mutant epidermal growth factor receptor. *Jpn J. Cancer Res.* 91, 1035-1043, October 2000
52. T Wakabayashi, Kajita Y, Mizuno M, Nagasaka T, Yoshida J:
53. Efficacy of adjuvant therapy with procarbazine, MCNU, and vincristine for oligodendroglial tumors.

54. Neurol med chir (Tokyo) Vol 41 (3), 115-120, 2001
55. T Wakabayashi, Yoshida J, Kajita Y, Mizuno M: Intratumoral microinfusion of Nimustine (ACNU) for recurrent glioma. Brain Tumor Pathol 18:23-28, 2001
56. Li B, Shinkai M, Kitade T, Honda H, Yoshida J, T Wakabayashi, Kobayashi T: Preparation of tumor-specific magnetoliposomes and their application for hyperthermia. J Chem. Eng. Jpn., 34(1), 66-72, 2001.
57. T Yoshida, Mizuno M, Taniguchi K, Nakayashiki N, T Wakabayashi, Yoshida J: Rat glioma cell death induced by cationic liposome-mediated transfer of the herpes simplex virus thymidine kinase gene followed by ganciclovir treatment. J Surgical Oncol., 76: 19-25, 2001.
58. M Shinkai M, Le B, Honda H, Yoshikawa K, Shimizu K, Saga S, T Wakabayashi, Yoshida J, Kobayashi T: Targeting hyperthermia for renal cell carcinoma using human MN antigen specific magnetoliposomes. Jpn J. Cancer Res. 92, 1138-1145, 2001
59. A Nagano-Saito, Kato T, T Wakabayashi, Nishino M, Ohshima M, Ito K, Ishiguchi T, Tadokoro M, Ishigaki T, Abe Y, Bundo M: High- and moderately high-methionine uptake demonstrated by PET in a patient with a subacute cerebral infarction. Annals of Nuclear Medicine. 15(4), 387-391, 2001
60. A Ito, Shinkai M, Honda H, T Wakabayashi, Yoshida J, Kobayashi T: Augmentation of MHC class I antigen presentation via heat shock protein expression by hyperthermia. Cancer Immunol Immunother. 50, 515-522, 2001
61. T Ohno, T Wakabayashi, Takemura A, Yoshida J, Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T: Effective solitary hyperthermia treatment of malignant glioma using stick type CMC-magnetite. In vivo study. J Neuro Oncol 56: 233-239, 2002
62. K Maeda, Mizuno M, T Wakabayashi, Takasu S, Nagasaka T, Inagaki M, Yoshida J: Morphological assessment of the development of multinucleated giant cells in glioma by using mitosis-specific phosphorylated antibodies. J Neurosurg 98: 854-859, 2003
63. N Nakahara, Pollack IF, Storkus WJ, T Wakabayashi, Yoshida J, Okada H: Effective induction of antiglioma cytotoxic t cells by coadministration of interferon-beta gene vector and dendritic cells. Cancer gene therapy 10: 549-558, 2003.

⑨ 吉田 純 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院・院長

1. Yoshida J, Kuwayama A, Koyabashi T, Kageyama N, Kanzaki M. Ultrastructural studies of prolactin secreting human pituitary adenomas. J Clin Elect Micro 8, 466-467, 1975
2. Yoahida, Kageyama N, Seo H, Kanzaki M. Growth hormone and prolactin secretion of pituitary adenoma. Neurol Med Chir 15, 13-21, 1975
3. Kobayashi T, Yoshida J, Okada C, Kageyama N, Kanzaki M. Ultrastructure of craniopharyngioma : EM and tissue culture studies on craniopharyngioma of squamous cell type. J Clin Elect Micro 9, 658-686, 1976
4. Okada C, Yoshida J, Kuwayama A, Kobayashi T, Fukaya H, Kageyama N, Kanzaki M. Ultrastructural study of pituitary adenomas with acromegaly. J Clin Elect Micro 9, 477-478, 1976
5. Yoshida J, Kobayashi T, Kageyama N, Kanzaki M. Symptomatic Rathke's cleft cyst. Morphological study with light and electron microscopy and tissue culture. J Neurosurg 47, 451-458, 1977
6. Yoshida J, Cravioto H. Nitrosourea-induced brain tumors. An in vivo and in vitro tumor model system. J Natl Cancer Inst 61, 365-374, 1978
7. Kobayashi T, Yoshida J, Okada C, Kida Y, Shibuya N, Kageyama N, Kanzaki M. The ultrastructure of optic gliomas. Infantile and child type. J Clin Elect Micro 11, 758-764, 1978
8. Kageyama N, Kuwayama A, Yoshida J, Takanohashi M, Nakane T, Fukaya T, Okada C. The result of transsphenoidal microsurgery in case of functioning pituitary adenomas. Seara Medica Neurcirurgica 7, 231-248, 1978
9. Fukaya T, Kageyama N, Kuwayama A, Takanohashi M, Okada C, Yoshida J, Osamura Y. Morphological study of pituitary adenomas with acromegaly by immunoperoxidase technique and electron microscopy. Cancer 45, 1598-1603, 1978
10. Yoshida J, Shibuya N, Kida Y, Kobayashi T, Kageyama N, Kanzaki M. Electron microscopic and tissue culture studies of ependymomas. J Clin Elect Micro 12, 698-699, 1979
11. Yoshida J, Cravioto H, Ransohoff J. In vitro transformation of fetal brain cells from CDF rats exposed in utero to N-ethyl-N-nitrosourea. Morphologic and immunologic studies. J Natl Cancer Inst 64, 1231-1239, 1980
12. Kobayashi T, Yoshida J, Shibuya N, Kida Y, Inoue S, Kageyama N, Kanzaki M. The ultrastructure of choroid plexus papilloma. J Clin Elect Micro 13, 638-639, 1980

13. Shibuya N, Yoshida J, Kida Y, Kobayashi T, Kageyama N. Scanning electron microscopic studies on the effect of ACNU to human and rat glioma cell line. *J Clin Elect Micro* 13, 664, 1980
14. Yamamoto T, Kageyama N, Usui K, Yoshida J. Fibromuscular dysplasia of the internal carotid artery. *Acta Neurochir* 50, 293-298, 1980
15. Kobayashi T, Kagemaya N, Yoshida J, Shibuya N, Yonezawa T. Pathological and clinical basis of the indications for treatment of craniopharyngiomas. *Neuro Med Chir* 21, 39-47, 1981
16. Chang CG, Kageyama N, Kobayashi T, Yoshida J, Negoro N. Pineal tumors. Clinical diagnosis with special emphasis on the significance of pineal calcification. *Neurosurg* 8, 656-668, 1981
17. Kobayashi T, Kageyama N, Kida Y, Yoshida J, Shibuya N, Okumura K. Unilateral germinomas involving the basal ganglia and thalamus. *J Neurosurg* 55, 55-62, 1981
18. Kobayashi T, Kida Y, Yoshida J, Shibuya N, Kageyama N. Brain metastasis of choriocarcinoma. *Surg Neurol* 17, 395-403, 1982
19. Yoshida J, Shibuya N, Kobayashi T, Kageyama N. Sensitivity to 1-(4-amino-2-methyl-5-pyrimidinyl)methyl-3-(2-chloroethyl)-3-nitrosourea hydrochloride (ACNU) of glioma cells in vivo and in vitro. *Cancer* 50, 410-418, 1982
20. Furui T, Ichihara K, Ikeda A, Inao S, Hirai N, Yoshida J, Kageyama N. Subdural hematoma associated with disseminated intravascular coagulation in patients with advanced cancer. *J Neurosurg* 58, 398-401, 1983
21. Yoshida J, Kobayashi T, Kageyama N. Multimodality treatment of malignant glioma. Effect of chemotherapy with ACNU and immunotherapy with N-CWS. *Neurol Med Chir* 24, 19-26, 1984
22. Kobayashi T, Yoshida J, Kageyama N, Mori O, Ogawa M. Successful treatment of dwarfism and hypogonadism after total removal of craniopharyngioma. *Neurol Med Chir* 25, 61-65, 1985
23. Kanamori M, Shibuya M, Yoshida J, Takayasu M, Kageyama N. Long-term follow-up of patients with optic glioma. *Child's Nerv-Syst* 1, 272-278, 1985
24. Kida Y, Kobayashi T, Yoshida J, Kageyama N. Chemotherapy with cisplatin for AFP-secreting germ cell tumors of the central nervous system. *J Neurosurg* 65, 470-475, 1986
25. Enomoto H, Yoshida J, Kageyama N. The effectiveness of combination therapy with HulfN- β and ACNU against malignant glioma. *Neurol Med Chir* 27, 6-10, 1987
26. Yoshida J, Wakabayashi T, Kito A, Kageyama N, Murata Y, Seo H, Kojima N, Yagi K. Clinical application of monoclonal antibodies against glioma-associated antigen. *Prog Exp Tumor Res* 30, 44-56, 1987
27. Kageyama N, Kanamori M, Yoshida J, Sugita K. Pathological consideration on follow-up results of optic glioma. *Prog Exp Tumor Res* 30, 100-107, 1987
28. Kageyama N, Kobayashi T, Kida Y, Yoshida J, Kato K. Intracranial germinal tumor. *Prog Exp Tumor Res* 30, 255-267, 1987
29. Wakabayashi T, Yoshida J, Seo H, Kato K, Murata Y, Matui N, Kageyama N. Characterization of neuroectodermal antigen defined by a monoclonal antibody and its application for the CSF diagnosis of human glioma. *J Neurosurg* 68, 449-455, 1988
30. Takahashi T, Mutsuga N, Aoki T, Handa T, Tanoi C, Yoshida J, Kageyama N. Localization of dural fistulas using metrizamide digital subtraction fluoroscopic cisternography. *J Neurosurg* 68, 721-725, 1988
31. Kato K, Yoshida J, Kageyama N, Kojima N, Yagi K. Liposome-entrapped human interferon- β : Its pharmacokinetics and antitumor activity against human brain tumor cells. *J Clin Biochem Nutr* 4, 139-147, 1988
32. Kobayashi T, Yoshida J, Ichiyama J, Noda S, Kito A, Kida Y. Combination chemotherapy with cisplatin and etoposide for malignant intracranial germ-cell tumors. *J Neurosurg* 70, 676-681, 1989
33. Kobayashi T, Yoshida J, Kida Y. Bilateral germ cell tumors involving the basal ganglia and thalamus. *Neurosurg* 24, 579-583, 1989
34. Kito A, Yoshida J, Kageyama N, Kojima N, Yagi K. Liposomes coupled with monoclonal antibodies against glioma-associated antigen for targeting chemotherapy of glioma. *J Neurosurg* 71, 382-387, 1989
35. Yoshida J, Yamamoto R, Wakabayashi T, Nagata M, Seo H. Radiomunoassay of glioma-associated antigen in cerebrospinal fluid and its usefulness for the diagnosis and monitoring of human glioma. *J Neuro-Oncol* 8, 23-31, 1990
36. Yoshida J, Mizuno M, Inoue I, Wakabayashi T, Sugita K, Seo H, Chiba K. Radioimaging of human glioma xenografts with ¹²⁵I labeled monoclonal antibody G-22 against glioma-associated antigen. *J Neuro-Oncol* 8, 221-229, 1990
37. Mizuno M, Yoshida J, Sugita K, Inoue I, Seo H, Hayashi Y, Koshizaka T, Yagi K. Growth inhibition of glioma cells transfected with the human β -interferon gene by liposomes coupled with a monoclonal antibody.

Cancer Res 50, 7826-7829, 1990

38. Mizuno M, Yoshida J, Sugita K, Yagi K. Growth inhibition of glioma cells of different cell lines by human interferon- β produced in the cells transfected with its gene by means of liposomes. *J Clin Biochem Nutr* 9, 73-77, 1990
39. Yoshida J. Local growth regulation of glioma by autocrine or paracrine growth factors. *Brain Tumor Pathol* 9, 171-175, 1990
40. Inoue I, Yoshida J, Nagata M, Mizuno M, Seo H, Matsui N. Superinduction of cytotoxic interferon- β in glioma cells. *Neurol Med Chir* 31, 485-489, 1991
41. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Secretion of human β -interferon into the cystic fluid of glioma transfected with the interferon- β gene. *J Clin Biochem Nutr* 11, 12-128, 1991
42. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Sugita K, Seo H, Oshima M, Tadokoro M, Sakuma S. Tumor specific binding of radiolabeled G-22 monoclonal antibody in glioma patients. *Neuro Med Chir* 32, 125-129, 1992
43. Wakabayashi T, Yoshida J, Mizuno M, Kito A, Sugita K. Effectiveness of interferon- β , ACNU and radiation therapy in pediatric patients with brainstem glioma. *Neurol Med Chir* 32, 942-946, 1992
44. Suzuki N, Oiwa Y, Sugano I, Inaba N, Sekiya S, Fukuzawa I, Yoshida J, Takakubo Y, Isogai E, Saito-Ebihara M. Dipyridamole enhances anti-proliferative effect of interferon in various types of human tumor cells. *Int J Cancer* 51, 627-633, 1992
45. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Sugita K, Yoshida T, Hori S, Mori T, Sato T, Karashima A, Kurisu K, Kiya K, Uozumi T. Clinical effect of intra-arterial tumor necrosis factor- α for malignant glioma. *J Neurosurg* 77, 78-83, 1992
46. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Antitumor effect of endogenous human β -interferon on malignant glioma and augmentation of the effect by tumor necrosis factor- α . *J Clin Biochem Nutr* 12, 153-160, 1992
47. Yagi G, Mizuno M, Yoshida J. Cytotoxicity of human β - and γ -interferon produced simultaneously in glioma cells transfected with interferon gene. *J Clin Biochem Nutr* 13, 1-6, 1992
48. Mizuno M, Yoshida J, Oyama H, Sugita K. Growth inhibition of glioma cells by liposome-mediated cell transfection with tumor necrosis factor- α gene. Its enhancement by prior γ Interferon treatment. *Neurol Med Chir* 32, 873-876, 1992
49. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Cytotoxicity of human β -interferon produced in human glioma cells transfected with its gene by means of liposomes. *Biochem Int* 28, 1055-1061, 1992
50. Tashiro T, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K. Reinforced cytotoxicity of lymphokine-activated killer cells toward glioma cells by transfection with the tumor necrosis factor- α gene. *J Neurosurg* 78, 252-256, 1993
51. Yoshida J, Sugita K, Kobayashi T, Takakura K, Shitara N, Matsutani M, Tanaka R, Nagai H, Yamada H, Yamashita J, Oda Y, Hayakawa T, Ushio Y. Prognosis of intracranial germ cell tumors: Effectiveness of chemotherapy with cisplatin and etoposide (CDDP and VP-16). *Acta Neurochir* 120, 111-117, 1993
52. Tashiro T, Yoshida J, Wakabayashi T, Sugita K, Abe H. Primary intracranial germinoma involving the medulla oblongata. *Neurol Med Chir* 33, 251-254, 1993
53. Oshima M, Yoshida J, Wakabayashi T, Ito K, Tadokoro M, Kato T, Sakuma S. Recurrent malignant glioma: detection with ¹³¹I labeled monoclonal antibody G-22, 1993
54. Kimura S, Ishida S, Matunaga K, Washizu K, Hiraiwa H, Takeuchi K, Wakabayashi T, Yoshida J, Kato K. Determination of tenascin in human serum by the use of a new enzyme immunoassay. *Biomed Res* 14, 203-208, 1993
55. Yagi K, Hayashi Y, Ishida N, Ohbayashi M, Ohishi N, Mizuno M, Yoshida J. Interferon- β endogenously produced by intratumoral injection of cationic liposome-encapsulated gene: Cytocidal effect on glioma transplanted into nude mouse brain. *Biochem Int* 32, 167-172, 1994
56. Mizuno M, Yoshida J, Takaoka T, Sugita K. Liposomal transfection of human γ -interferon gene into glioma cells and adoptive immunotherapy using lymphokine-activated killer cells. *J Neurosurg* 80, 1-6, 1994
57. Yoshida J, Kajita Y, Wakabayashi T, Sugita K. Long-term follow-up results of 175 patients with malignant glioma; Importance of radical tumor resection and postoperative adjuvant therapy with interferon, ACNU and radiation. *Acta Neurochir* 127, 55-59, 1994
58. Yoshida J, Wakabayashi T, Kimura S, Washizu K, Kiyosawa K, Mokuno K. Tenascin in cerebrospinal fluid is an useful biomarker for the diagnosis of brain tumor. *J Neurosurg Psychi* 57, 1212-1215, 1994
59. Yoshida J, Mizuno M. Simple method to prepare cationic multilamellar liposomes for efficient transfection of human interferon- β gene to human glioma cells. *J Neuro-Oncol* 19, 269-274, 1994
60. Kamo M, Yoshida J, Sugita K. Four autopsy cases of primary CNS lymphoma, consideration of unknown causes of death. *Brain Tumor Pathol* 11, 35-41, 1994

61. Mizuno M, Yoshida J, Takaoka T, Sugita K. Reinforced cytotoxicity of lymphokine-activated killer cells toward glioma cells by transfection of the killer cells with the β -interferon gene. *Jpn J Cancer Res* 86, 95-100, 1995
62. Harada K, Yoshida J, Mizuno M, Uozumi T. Growth inhibition of intracerebral rat glioma by transfection-induced human interferon β . *J Surgical Oncology* 55, 105-109, 1995
63. Yoshida J, Mizuno M. Simple preparation and characterization of cationic liposomes associated with a monoclonal antibody against glioma-associated antigen (immunoliposomes). *J Liposome Res* 5, 981-995, 1995
64. Yoshida J, Mizuno M, Seo H, Ishikawa T, Kakuma S. Inhibition of hepatitis B virus replication by interferon- β produced in situ by gene delivery. *Environ Med* 39, 33-36, 1995
65. Mizuno M, Yoshida J. Tumor necrosis factor α gene transfer augments anti-Fas antibody-mediated apoptosis in human glioma cells. *Jpn J Cancer Res* 8, 543-547, 1996
66. Mizuno M, Yoshida J. Repeated exposure to cationic immunoliposomes activates effective gene transfer to human glioma cells. *Neurologia Medico-Chirurgica* 36, 141-144, 1996
67. Sadatomo T, Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Harada K, Kurisu K, Uozumi T, Sugita K. New approach for the treatment of medulloblastoma by transfection with glial fibrillary acidic protein gene. *Surgical Oncol* 5, 69-75, 1996
68. Okada H, Miyamura K, Itoh T, Hagiwara M, Wakabayashi T, Mizuno M, Colosi P, Kurtzman G, Yoshida J. Gene therapy against an experimental glioma using adeno-associated virus vectors. *Gene Therapy* 3, 957-964, 1996
69. Yoshida J, Takaoka T, Mizunno M, Momota H, Okada H. Cytolysis of malignant glioma cells by lymphokine-activated killer cells combined with anti-CD3 antiglioma bifunctional antibody and tumor necrosis factor- α . *J Surgical Oncol* 62, 177-182, 1996
70. Shinkai M, Yanase M, Honda H, Wakabayashi T, Mizuno M, Yoshida J, Kobayashi T. Intracellular hyperthermia for cancer using magnetic cationic liposome (In vitro study). *Jpn J Cancer Res* 87, 1179-1183, 1996
71. Okada H, Yoshida J, Sokabe M, Wakabayashi T, Hagiwara M. Suppression of CD44 expression decreases migration and invasion of human glioma cells. *Int J Cancer* 66, 255-260, 1996
72. Okamoto S, Yoshikawa K, Obata Y, Shibuya M, Aoki S, Yoshida J, Takahashi T. Monoclonal antibody against the fusion junction of a deletion-mutant epidermal growth factor receptor. *Br J Cancer* 73, 1366-1372, 1996
73. Wakabayashi T, Yoshida J, Takaoka T, Sadatomo T, Mizuno M, Kimura S. Enzyme immunoassay of glioma cell tenascin secretion and augmentation by tumor necrosis factor- α . *Neuro Med Chir* 37, 392-398, 1997
74. Mizuno M, Yoshida J. Effect of human interferon- β gene transfer upon human glioma transplanted into nude mouse brain involves induced natural killer cells. *Cancer Immunol Immunother* 47, 227-231, 1998
75. Bouhon IA, Shinkai M, Honda H, Mizuno M, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Synergism between mild hyperthermia and interferon- β gene expression. *Cancer Letters* 139, 153-158, 1999
76. Natsume A, Mizuno M, Ryuke Y, Yoshida J. Antitumor effect and cellular immunity activation by murine interferon- β gene transfer against intracerebral glioma in mouse. *Gene Therapy* 6, 1626-1633, 1999
77. Otsuka G, Nagaya T, Saito K, Mizuno M, Yoshida J, Seo H. Inhibition of NF- κ B activation confers sensitivity to TNFa by impairment of cell-cycle progression in human glioma cells. *Cancer Res* 59, 4446-4452, 1999
78. Kasuya H, Mizuno M, Yoshida J, Nishiyama Y, Nomoto S, Nakao A. Combined effects of adeno-associated virus vector and a herpes simplex virus mutant as neoplastic therapy. *J Surgical Oncology* 74, 214-218, 2000
79. Ryuke Y, Mizuno M, Natsume A, Yoshida J. Transduction efficiency of adenoviral vectors into human glioma cells increased by association with cationic liposomes. *Neurol Med Chir* 40, 256-260, 2000
80. Natsume A, Tsujimura K, Mizuno M, Takahashi T, Yoshida J. IFN- β gene therapy induces systemic antitumor immunity against malignant glioma. *J Neuro-Oncology* 47, 117-124, 2000
81. Natsume A, Mizuno M, Ryuke Y, Yoshida J. Cationic liposome conjugation to recombinant adenoviral vector reduces viral antigenicity. *Jpn J Cancer Res* 91, 363-367, 2000
82. Hatano N, Wakabayashi T, Kajita Y, Mizuno M, Ohno T, Nakayashiki N, Takemura A, Yoshida J. Efficacy of post operative adjuvant therapy with human interferon beta, MCNU and radiation (IMR) for malignant glioma : Comparison among three protocol. *Acta Neurochirurgica* 142, 633-639, 2000
83. Nakayashiki N, Yoshikawa K, Nakamura K, Hanai N, Okamoto K, Okamoto S, Mizuno M, Wakabayashi T, Saga S, Yoshida J, Takahashi T. Production of a single chain variable fragment antibody recognizing type III

- mutant epidermal growth factor receptor. *Jpn J Cancer Res* 91, 1035-1043, 2000
84. Wakabayashi T, Hatano N, Kajita Y, Yoshida T, Mizuno M, Taniguchi K, Ohno T, Nagasaka T, Yoshida J. Initial and maintenance combined therapy treatment with interferon- β , MCNU (Ranimustine), and radiotherapy for patients with previously untreated malignant glioma. *J Neuro-Oncol* 49, 57-62, 2000
 85. Fukui T, Hayashi Y, Fukuhara H, Yamamoto N, Nishikawa M, Mitsudo K, Tohno I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Suicide gene therapy for human oral squamous cell carcinoma with adeno-associated virus vector. *Oral Oncol* 7, 187-189, 2001
 86. Yamamoto N, Hayashi Y, Fukuhara H, Fukui T, Nishikawa M, Mitsudo K, Tohno I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Basic research on interferon gene therapy for oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 7, 492-494, 2001
 87. Nishikawa M, Hayashi Y, Yamamoto N, Fukui T, Fukuhara H, Mitsudo K, Tohno I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Cell death of human oral squamous cell carcinoma cell line induced by herpes simplex virus thymidine kinase gene and ganciclovir. *Oral Oncol* 7, 578-580, 2001
 88. Kageshita T, Mizuno M, Ono T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Growth inhibition of human malignant melanoma transfected with the human interferon- β gene by means of cationic liposomes. *Melanoma Res* 11, 337-342, 2001
 89. Yoshida T, Mizuno M, Taniguchi K, Nakayashiki N, Wakabayashi T, Yoshida J. Rat glioma cell death induced by cationic liposome-mediated transfer for the herpes simplex virus thymidine kinase gene followed by ganciclovir treatment. *J Surgical Oncol* 76, 19-25, 2001
 90. Wakabayashi T, Kajita Y, Mizuno M, Nagasaka T, Yoshida J. Efficacy of adjuvant therapy with procarbazine, MCNU and vincristine for oligodendroglial tumors. *Neurologia Medico-Chirurgica* 41, 115-120, 2001
 91. Aoki H, Mizuno M, Natsume A, Tsugawa T, Tsujimura K, Takahashi T, Yoshida J. Dendritic cells pulsed with tumor extract-cationic liposomes complex increase the induction of cytotoxic T lymphocytes in mouse brain tumor. *Cancer Immunol Immunother* 50, 463-468, 2001
 92. Okamoto K, Mizuno M, Nakahara N, Natsume A, Yoshida J, Mori T, Hori S, Kobayashi H. Process of apoptosis induced by TNF- α in murine fibroblast Ltk-cell : Continuous observation with video enhanced contrast microscopy. *Apoptosis* 7, 77-86, 2002

⑩ 水野正明 名古屋大学大学院医学系研究科遺伝子治療学分野准教授

1. Mizuno M, Yoshida J, Sugita K, Inoue I, Seo H, Hayashi Y, Koshizaki T, Yagi K. Growth inhibition of glioma cells transfected with the human β -interferon gene by liposomes coupled with a monoclonal antibody. *Cancer Res* 50, 7826-7829, 1990
2. Mizuno M, Yoshida J, Sugita K, Yagi K. Growth inhibition of glioma cells of different cell lines by human interferon- β produced in the cells transfected with its gene by means of liposomes. *J Clin Biochem Nutr* 9, 73-77, 1990
3. Yoshida J, Mizuno M, Inoue I, Wakabayashi T, Sugita K, Seo H, Chiba K. Radioimaging of human glioma xenografts with ¹²³I labeled monoclonal antibody G-22 against glioma-associated antigen. *J Neuro-Oncol* 8, 221-229, 1990
4. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Secretion of human β -interferon into the cystic fluid of glioma transfected with the interferon gene. *J Clin Biochem Nutr* 11, 123-128, 1991
5. Inoue I, Yoshida J, Nagata M, Mizuno M, Seo H, Matsui N. Superinduction of cytotoxic interferon- β in glioma cells. *Neurologia Medico-Chirurgica* 31, 485-489, 1991
6. Enomoto H, Mizuno M, Katsumata T, Doi T. Intracranial metastasis of a choroid plexus papilloma originating in the cerebellopontine angle region : A case report. *Surg Neurol* 36, 54-58, 1991.
7. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Oyama H, Nishihashi K, Sugita K. The interaction between cytokines and growth factors on the growth of glioma cells. In Tabuchi K. (ed) "Biology Aspect of Brain Tumors." Springer-Verlag, Tokyo, 200-206, 1991
8. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Sugita K, Seo H, Ohshima M, Tadokoro M, Sakuma S. Tumor-specific binding of radiolabeled G-22 monoclonal antibody in glioma patients *Neurologia Medico-Chirurgica* 32, 125-129, 1992
9. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Sugita K, Yoshida T, Hori S, Mori T, Sato T, Karashima A, Kurusu K, Kiya K, Uozumi T. Clinical effect of intra-arterial tumor necrosis factor- α for malignant glioma. *J Neurosurg* 77, 78-83, 1992
10. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Antitumor effect of endogenous human β -interferon on malignant glioma and augmentation of the effect by tumor necrosis factor- α . *J Clin Biochem Nutr* 12, 153-160, 1992

11. Mizuno M, Yoshida J, Oyama H, Sugita K. Growth inhibition of glioma cells by liposome-mediated cell transfection with tumor necrosis factor- α . Its enhancement by prior γ -interferon treatment. *Neurologia Medico-Chirurgica* 32, 873-876, 1992
12. Wakabayashi T, Yoshida J, Mizuno M, Kito A, Sugita K. Effectiveness of interferon- β , ACNU and radiation therapy in pediatric patients with brainstem glioma. *Neurologia Medico-Chirurgica* 32, 942-946, 1992
13. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Cytotoxicity of human β -interferon produced human glioma cells transfected with its gene by means of liposomes. *Biochemistry International* 28, 1055-1061, 1992
14. Yagi K, Mizuno M, Yoshida J. Cytotoxicity of human β -and γ -interferon produced simultaneously in glioma cells transfected with interferon genes. *J Clin Biochem Nutr* 13, 1055-1061, 1992
15. Tashiro T, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K. Reinforced cytotoxicity of lymphokine-activated killer cells toward glioma cells by transfection with the tumor necrosis factor- α gene. *J Neurosurg* 78, 252-256, 1993
16. Mizuno M, Yoshida J, Takaoka T, Sugita K. Liposomal transfection of human γ -interferon gene into human glioma cells and adoptive immunotherapy using lymphokine-activated killer cells. *J Neurosurg* 80, 510-514, 1994
17. Yagi K, Hayashi Y, Ishida N, Ohbayashi M, Ohishi N, Mizuno M, Yoshida J. Interferon- β endogenously produced by intratumoral injection of cationic liposome encapsulated gene : Cytocidal effect on glioma transplanted into nude mouse brain. *Biochem Mol Biol Int* 32, 167-172, 1994
18. Kato K, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K, Emi N. Retrovirus transfer of herpes simplex thymidine kinase gene into glioma cells causes targeting of gancyclovir cytotoxic effect. *Neurologia Medico-Chirurgica* 34, 339-344, 1994
19. Yoshida J, Mizuno M. Simple method to prepare cationic multilamellar liposomes for efficient transfection of human interferon- β gene to human glioma cells. *J Neuro-Oncol* 19, 269-274, 1994
20. Takaoka T, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K. Transfection-induced tumor necrosis factor- α increases the susceptibility of human glioma cells to lysis by lymphokine-activated killer cells continuous expression of intercellular adhesion molecule-1 on the glioma cells. *Jpn J Cancer Res* 85, 750-755, 1994
21. Harada K, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K, Uozumi T. Growth inhibition of subcutaneously transplanted human glioma by transfection-induced tumor necrosis factor- α and augmentation of the effect by γ -interferon. *J Neuro-Oncol* 22, 221-225, 1994
22. Wakabayashi T, Yoshida J, Mizuno M, Sugita K, Itoh K, Tadokoro M, Oshima M. Radioimmunolocalization of human brain tumor : Fundamental studies with indium-III labeled monoclonal antibody G-22. *Brain Tumor Pathology* 11, 177-180, 1994
23. Mizuno M, Yoshida J, Takaoka T, Sugita K. Reinforced cytotoxicity of lymphokine-activated killer cells toward glioma cells by transfection of the killer cells with the γ -interferon gene. *Jpn J Cancer Res* 86, 95-100, 1995
24. Harada K, Yoshida J, Mizuno M, Uozumi T. Growth inhibition of intra cerebral rat glioma by transfection-induced human interferon- β . *J Surgical Oncology* 55, 105-109, 1995
25. Yoshida J, Mizuno M. Simple preparation and characterization of cationic liposomes associated with a monoclonal antibody against glioma-associated antigen (immunoliposomes). *J Liposome Res* 5, 981-995, 1995
26. Yoshida J, Mizuno M, Seo H, Ishikawa T, Kakumu S. Inhibition of hepatitis B virus replication by interferon- β produced in situ by gene delivery. *Environ Med* 39, 33-36, 1995
27. Mizuno M, Yoshida J. Tumor necrosis factor- α gene transfer augments anti-Fas antibody-mediated apoptosis in human glioma cells. *Jpn J Cancer Res* 8, 543-547, 1996
28. Mizuno M, Yoshida J. Repeated exposure to cationic immunoliposomes activates effective gene transfer to human glioma cells. *Neurologia Medico-Chirurgica* 36, 141-144, 1996
29. Sadamoto T, Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Harada K, Kurisu K, Uozumi T, Sugita K. New approach for the treatment of medulloblastoma by transfection with glial fibrillary acidic protein gene. *Surgical Oncol* 5, 69-75, 1996
30. Okada H, Miyamura K, Itoh T, Hagiwara M, Wakabayashi T, Mizuno M, Colosi P, Kurtzman G, Yoshida J. Gene therapy against an experimental glioma using adeno-associated virus vectors. *GeneTherapy* 3, 957-964, 1996
31. Yoshida J, Takaoka T, Mizuno M, Momota H, Okada H. Cytolysis of malignant glioma cells by lymphokine-activated killer cells combined with anti-CD3 anti glioma bifunctional antibody and tumor necrosis factor- α . *J Surgical Oncol* 62, 177-182, 1996
32. Yoshida J, Wakabayashi T, Mizuno M, Takaoka T, Okamoto S, Okada H, Yagi K. Cytokine gene therapy of

- malignant glioma by means of DNA/liposomes. *Brain Tumor-Research and Therapy* ; Springer-Verlag (Tokyo)1995.
33. Wakabayashi T, Yoshida J, Takaoka T, Sadamoto T, Mizuno M, Kimura S. Enzyme immunoassay of glioma cell tenascin secretion and augmentation by tumor necrosis factor- α . *Neurologia Medico-Chirurgica* 37, 392-398, 1997
 34. Ohta S, Mizuno M, Takaoka T, Yoshida J. Augmentation of anti-Fas antibody-mediated apoptosis on human glioma cells by liposomes associated with the antibody. *J Neuro-Oncology* 35, 7-11, 1997
 35. Mizuno M, Yoshida J, Colosi P, Kurtzman GJ. Adeno-associated virus vector containing the herpes simplex virus-thymidine kinase gene cause complete regression of intracerebrally implanted human gliomas in mice. *Jpn J Cance Res* 89, 76-80, 1998
 36. Mizuno M, Yoshida J. Improvement of transduction efficiency of recombinant adeno-associated virus vector by entrapment in multilamellar liposomes. *Jpn J Cancer Res* 89, 352-354, 1998
 37. Bucur N, Mizuno M, Wakabayashi T, Yoshida J. Growth inhibition of experimental glioma by human interferon- β superinduced by cationic liposomes entrapping polyinosinic : polycytidilic acid. *Neurol Med Chir* 37, 763-771, 1998
 38. Ohta S, Yoshida J, Yamamoto S, Uemura K, Wakabayashi T, Mizuno M, Sakurai T, Terakawa S. Video-enhanced microscopic visualization of apoptotic cell death caused by anti-Fas antibody in living human glioma cells. *Brain Tumor Pathol* 15, 19-21, 1998
 39. Mizuno M, Yoshida J. Effect of human interferon- β gene transfer upon human glioma transplanted into nude mouse brain involves induced natural killer cells. *Cancer Immunol Immunother* 47, 227-231, 1998
 40. Bouhon IA, Shinkai M, Honda H, Mizuno M, Wakabayashi T, Yoshida J, Kobayashi T. Synergism between mild hyperthermia and interferon- β gene expression. *Cancer Letters* 139, 153-158, 1999
 41. Natsume A, Mizuno M, Ryuke Y, Yoshida J. Antitumor effect and cellular immunity activation by murine interferon- β gene transfer against intracerebral glioma in mouse. *Gene Therapy* 6, 1626-1633, 1999
 42. Otsuka G, Nagaya T, Saito K, Mizuno M, Yoshida J, Seo H. Inhibition of NF- κ B activation confers sensitivity to TNF α by impairment of cell-cycle progression in human glioma cells. *Cancer Res* 59, 4446-4452, 1999
 43. Kasuya H, Mizuno M, Yoshida J, Nishiyama Y, Nomoto S, Nakao A. Combined effects of adeno-associated virus vector and a herpes simplex virus mutant as neoplastic therapy. *J Surgical Oncology* 74, 214-218, 2000
 44. Ryuke Y, Mizuno M, Natsume A, Yoshida J. Transduction efficiency of adenoviral vectors into human glioma cells increased by association with cationic liposomes. *Neurol Med Chir* 40, 256-260, 2000
 45. Natsume A, Tsujimura K, Mizuno M, Takahashi T, Yoshida J. IFN- β gene therapy induces systemic antitumor immunity against malignant glioma. *J Neuro-Oncology* 47, 117-124, 2000
 46. Natsume A, Mizuno M, Ryuke Y, Yoshida J. Cationic liposome conjugation to recombinant adenoviral vector reduces viral antigenicity. *Jpn J Cancer Res* 91, 363-367, 2000
 47. Hatano N, Wakabayashi T, Kajita Y, Mizuno M, Ohno T, Nakayashiki N, Takemura A, Yoshida J. Efficacy of post operative adjuvant therapy with human interferon beta, MCNU and radiation (IMR) for malignant glioma : Comparison among three protocol. *Acta Neurochirurgica* 142, 633-639, 2000
 48. Nakayashiki N, Yoshikawa K, Nakamura K, Hanai N, Okamoto K, Okamoto S, Mizuno M, Wakabayashi T, Saga S, Yoshida J, Takahashi T. Production of a single chain variable fragment antibody recognizing type III mutant epidermal growth factor receptor. *Jpn J Cancer Res* 91, 1035-1043, 2000
 49. Wakabayashi T, Hatano N, Kajita Y, Yoshida T, Mizuno M, Taniguchi K, Ohno T, Nagasaka T, Yoshida J. Initial and maintenance combined therapy treatment with interferon- β , MCNU (Ranimustine), and radiotherapy for patients with previously untreated malignant glioma. *J Neuro-Oncol* 49, 57-62, 2000
 50. Fukui T, Hayashi Y, Fukuhara H, Yamamoto N, Nishikawa M, Mitsudo K, Tohnai I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Suicide gene therapy for human oral squamous cell carcinoma with adeno-associated virus vector. *Oral Oncol* 7, 187-189, 2001
 51. Yamamoto N, Hayashi Y, Fukuhara H, Fukui T, Nishikawa M, Mitsudo K, Tohnai I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Basic research on interferon gene therapy for oral squamous cell carcinoma. *Oral Oncol* 7, 492-494, 2001
 52. Nishikawa M, Hayashi Y, Yamamoto N, Fukui T, Fukuhara H, Mitsudo K, Tohnai I, Ueda M, Mizuno M, Yoshida J. Cell death of human oral squamous cell carcinoma cell line induced by herpes simplex virus thymidine kinase gene and ganciclovir. *Oral Oncol* 7, 578-580, 2001
 53. Kageshita T, Mizuno M, Ono T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Growth inhibition of human malignant melanoma transfected with the human interferon- β gene by means of cationic liposomes. *Melanoma Res* 11,

337-342, 2001

54. Yoshida T, Mizuno M, Taniguchi K, Nakayashiki N, Wakabayashi T, Yoshida J. Rat glioma cell death induced by cationic liposome-mediated transfer for the herpes simplex virus thymidine kinase gene followed by ganciclovir treatment. *J Surgical Oncol* 76, 19-25, 2001
55. Wakabayashi T, Kajita Y, Mizuno M, Nagasaka T, Yoshida J. Efficacy of adjuvant therapy with procarbazine, MCNU and vinristine for oligodendrogial tumors. *Neurologia Medico-Chirurgica* 41, 115-120, 2001
56. Aoki H, Mizuno M, Natsume A, Tsugawa T, Tsujimura K, Takahashi T, Yoshida J. Dendritic cells pulsed with tumor extract-cationic liposomes complex increase the induction of cytotoxic T lymphocytes in mouse brain tumor. *Cancer Immunol Immunother* 50, 463-468, 2001
57. Okamoto K, Mizuno M, Nakahara N, Natsume A, Yoshida J, Mori T, Hori S, Kobayashi H. Process of apoptosis induced by TNF- α in murine fibroblast Ltk-cell : Continuous observation with video enhanced contrast micro scope. *Apoptosis* 7, 77-86, 2002

14. その他必要な事項

(1) 文献

1. 小柳知彦、村井 勝、大島伸一(編):新 図説泌尿器科学講座3 泌尿器科腫瘍学. メジカルビュー社、東京、76-95、1999
2. Cohen HT, McGovern FJ. Renal-cell carcinoma. *N Engl J Med* 353, 2477-90,2005.
3. Aass N, De Mulder PH, Mickisch GH, Mulders P, van Oosterom AT, van Poppel H, Fossa SD, de Prijck L, Sylvester RJ. Randomized phase II/III trial of interferon Alfa-2a with and without 13-cis-retinoic acid in patients with progressive metastatic renal cell Carcinoma: the European Organisation for Research and Treatment of Cancer Genito-Urinary Tract Cancer Group (EORTC 30951). *J Clin Oncol* 23, 4172-78,2005
4. Jonasch E and Haluska FG: Interferon in oncological practice: review of interferon biology, clinical applications, and toxicities. *Oncologist* 6, 34-55, 2001
5. Rinehart JJ, Young D, Laforge J, Colborn D, Neidhart JA : Phase I/II trial of interferon-beta-serine in patients with renal cell carcinoma: immunological and biological effects. *Cancer Res* 47, 2481-2485, 1987
6. 新島端夫 : インターフェロン- β (MR21)の腎細胞癌および膀胱癌に対する臨床効果の検討. *Journal of Japan Society Cancer Therapy* 22, 928-933, 1987
7. 水谷陽一、三木恒治 : エビデンスに基づいたバイオセラピーの有用性“インターフェロン”. *Biotherapy* 16、49-52、2002
8. McDermott DF, Regan MM, Clark JI, Flaherty LE, Weiss GR, Logan TF, Kirkwood JM, Gordon MS, Sosman JA, Ernstoff MS, Tretter CP, Urba WJ, Smith JW, Margolin KA, Mier JW, Gollob JA, Dutcher JP, Atkins MB. Randomized phase III trial of high-dose interleukin-2 versus subcutaneous interleukin-2 and interferon in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J Clin Oncol.* 23, 133-141,2005
9. Yang JC, Sherry RM, Steinberg SM, Topalian SL, Schwartzentruber DJ, Hwu P, Seipp CA, Rogers-Freezer L, Morton KE, White DE, Liewehr DJ, Merino MJ, Rosenberg SA : Randomized study of high-dose and low-dose interleukin-2 in patients with metastatic renal cancer. *J Clin Oncol.* 21, 3127-32, 2003
10. Motzer RJ, Hutson TE, Tomczak P, Michaelson MD, Bukowski RM, Rixe O, Oudard S, Negrier S, Szczylik C, Kim ST, Chen I, Bycott PW, Baum CM, Figlin RA: Sunitinib versus interferon alfa in metastatic renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 356, 115-24, 2007
11. Escudier B, Eisen T, Stadler WM, Szczylik C, Oudard S, Siebels M, Negrier S, Chevreau C, Solska E, Desai AA, Rolland F, Demkow T, Hutson TE, Gore M, Freeman S, Schwartz B, Shan M, Simantov R, Bukowski RM; TARGET Study Group.: Sorafenib in advanced clear-cell renal-cell carcinoma. *N Engl J Med.* 356, 125-34, 2007
12. Childs R, Cheronoff A, Contentin N, Bahceci E, Schrupp D, Leitman S, Read EJ, Tisdale J, Dunbar C, Linehan WM, Young NS, Barrett AJ : Regression of metastatic renal-cell carcinoma after nonmyeloablative allogeneic peripheral-blood stem-cell transplantation. *N Engl J Med* 343, 750-758, 2000
13. Uemura H, Fujimoto K, Tanaka M, Yoshikawa M, Hirao Y, Uejima S, Yoshikawa K, Itoh K. A phase I trial of vaccination of CA9-derived peptides for HLA-A24-positive patients with cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 12, 1768-75,2006
14. Mizuno M, Yoshida J, Sugita K, Inoue I, Seo H, Hayashi Y, Koshizaka T, Yagi K : Growth inhibition of glioma cells transfected with the human beta-interferon gene by liposomes coupled with a monoclonal antibody. *Cancer Res* 50, 7826-7829, 1990
15. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K : Cytotoxicity of human β -interferon produced by human glioma cells transfected with its gene by means of liposomes. *Biochem Int* 28, 1055-1061, 1992
16. Yagi K, Noda H, Kurono M, Ohishi N : Efficient gene transfer with less cytotoxicity by means of cationic multilamellar liposomes. *Biochem Biophys Res Commun* 196, 1042-1048, 1993
17. Natsume A, Mizuno M, Ryuke Y, Yoshida J: Antitumor effect and cellular immunity activation by murine interferon- β gene transfer against intracerebral glioma in mouse. *Gene Ther* 6, 1626-1633, 1999
18. Natsume A, Tsujimura K, Mizuno M, Takahashi T, Yoshida J : IFN- β gene therapy induces systemic

- antitumor immunity against malignant glioma. *J Neuro-Oncol* 47, 117-124, 2000
19. Nakanishi H, Mizutani Y, Kawauchi A, Ukimura O, Shiraishi T, Hatano M, Mizuno M, Yoshida J, Miki T : Significant antitumoral activity of cationic multilamellar liposomes containing human IFN-beta gene against human renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* 9, 1129-1135, 2003
 20. Taniguchi T, Ohno S, Fujii-Kuriyama K, Muramatsu M : The nucleotide sequence of human fibroblast interferon cDNA. *Gene* 10, 11-15, 1980
 21. 鬼頭万里子、大石誠子、八木國夫 : M 期同調細胞における遺伝子移入. *蛋白質核酸酵素* 36, 2242-2245, 1991
 22. Nobayashi M, Mizuno M, Kageshita T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J : Repeated cationic multilamellar liposome-mediated gene transfer enhanced transduction efficiency against murine melanoma cell lines. *J Dermatol Sci* 29, 206-213, 2002
 23. 弘井 誠, 森木利昭, 原 弘: Flow cytometry による腎細胞癌核DNAの解析. *医学と生物学* 122, 217-222, 1991
 24. Galanis E, Burch PA, Richardson RL, Lewis B, Pitot HC, Frytak S, Spier C, Akporiaye ET, Peethambarm PP, Kaur JS, Okuno SH, Unni KK, Rubin J: Intratumoral administration of a 1,2-dimyristyloxypropyl-3-dimethylhydroxyethyl ammonium bromide/dioleoylphosphatidylethanolamine formulation of the human interleukin-2 gene in the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *Cancer*, 101, 2557-66, 2004
 25. Mizutani Y, Nakanishi H, Miki T, Mizuno M, Yoshida J: Gene therapy using cationic multilamellar liposomes containing human IFN-beta gene against human renal cell carcinoma. *Hinyokika Kyo* 51, 71-73, 2005
 26. Suh RD, Golgin JG, Wallace AB, Sheehan RE, Heinze SB, Gitlitz BJ, Figlin RA: Metastatic renal cell carcinoma: CT-guided immunotherapy as a technically feasible and safe approach to delivery of gene therapy for treatment. *Radiology*, 231, 359-364, 2004
 27. Simons JW, Jaffee EM, Weber CE, Levitsky HI, Nelson WG, Carducci MA, Lazenby AJ, Cohen LK, Finn CC, Clift SM, Hauda KM, Beck LA, Leiferman KM, Owens AH Jr, Piantadosi S, Dranoff G, Mulligan RC, Pardoll DM, Marshall FF : Bioactivity of autologous irradiated renal cell carcinoma vaccines generated by ex vivo granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene transfer. *Cancer Res* 57, 1537-1546, 1997
 28. Kawai K, Tani K, Yamashita N, Tomikawa S, Eriguchi M, Fujime M, Okumura K, Kakizoe T, Clift S, Ando D, Mulligan R, Yamauchi A, Noguchi M, Asano S, Akaza H : Advanced renal cell carcinoma treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene therapy : a clinical course of the first Japanese experience. *Int J Urol* 9, 462-466, 2002
 29. Galanis E, Hersh EM, Stopeck AT, Gonzalez R, Burch P, Spier C, Akporiaye ET, Rinehart JJ, Edmonson J, Sobol RE, Forscher C, Sondak VK, Lewis BD, Unger EC, O'Driscoll M, Selk L, Rubin J : Immunotherapy of advanced malignancy by direct gene transfer of an interleukin-2 DNA/DMRIE/DOPE lipid complex : phase I/II experience. *J Clin Oncol* 17, 3313-3323, 1999
 30. Felgner PL, Gadek TR, Holm M, Roman R, Chan HW, Wenz M, Northrop JP, Ringold GM, Danielsen M : Lipofectin: A highly efficient, lipid-mediated DNA-transfection procedure. *Proc Natl Acad Sci USA* 84, 7413-7417, 1987
 31. Hui KM, Ang PT, Huang L, Tay SK : Phase I study of immunotherapy of cutaneous metastases of human carcinoma using allogeneic and xenogeneic MHC DNA-liposome complexes. *Gene Ther* 4, 783-790, 1997
 32. Caplen NJ, Alton EW, Middleton PG, Dorin JR, Stevenson BJ, Gao X, Durham SR, Jeffery PK, Hodson ME, Coutelle C, et al : Liposome-mediated CFTR gene transfer to the nasal epithelium of patients with cystic fibrosis. *Nat Med* 1, 39-46, 1995
 33. Goddard CA, Ratcliff R, Anderson JR, Glenn E, Brown S, Gill DR, Hyde SC, Mac Vinish LJ, Huang L, Higgins CF, Cuthbert AW, Evans MJ, Colledge W : A second dose of a CFTR cDNA-liposome complex is as effective as the first dose in restoring cAMP-dependent chloride secretion to null CF mice trachea. *Gene Ther* 4, 1231-1236, 1997
 34. 松本和彦, 斎田俊明: 治療法の進歩-効果、成績- メラノーマ (悪性黒色腫). *日本臨牀* 64, 1321-26,

2006

35. Serman DH, Gillespie CT, Carroll RG, Coughlin CM, Lord EM, Sun J, Haas A, Recio A, Kaiser LR, Coukos G, June CH, Albelda SM, Vonderheide RH. Interferon beta adenoviral gene therapy in a patient with ovarian cancer. *Nat Clin Pract Oncol* 3, 633-639,2006