

# 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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究  
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  $\mu\text{g}$  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  $\alpha$  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と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 茂隆	早稲田大学理工学術院特任教授
あらと 荒戸 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 敬也	自治医科大学医学部教授
かねこ 金子 周一	金沢大学医薬保健研究域医学系教授
かねだ 金田 安史	大阪大学大学院医学系研究科教授
さいとう 斎藤 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 隆	日本医科大学医学部教授
はまだ 濱田 洋文	札幌医科大学教授
はやかわ 早川 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 4 1 6
	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	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	所属部局の所在地	京都市上京区河原町通広小路上ル (郵便番号 602-8566)	
	所属機関・部局・職	京都府立医科大学大学院医学研究科泌尿器外科学 教授	
	氏 名	三 木 恒 治 	
実施の場所	所 在 地	京都市上京区河原町通広小路上ル (郵便番号 602-8566)	
	名 称	京都府立医科大学附属病院	
	連 絡 先	京都府立医科大学附属病院泌尿器科 (電話 075-251-5595)	
総括責任者以外の研究者	氏 名	所 属 機 関 ・ 部 局 ・ 職	役 割
	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 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	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		
		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 <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤による遺伝子治療を実施する。本臨床研究は第 I / II 相試験で、その主要な目的は本治療法の安全性の評価である。また、副次的な目的は本治療法の有効性の評価である。具体的には原発腫瘍病巣を手術で摘除し、病理組織学的に腎細胞癌の診断が確定している転移を有する腎細胞癌患者の肺・リンパ節などの転移腫瘍病巣内に遺伝子製剤を注入し、その安全性について検討するとともに、局所および全身的效果を判定する。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 ヶ月と極めて短い。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 <math>\alpha</math> 型インターフェロンの単独療法での奏効率は約 15~20%で、ほとんどの症例に完全寛解は認められず、満足のいくものではない。また、<math>\alpha</math> 型インターフェロンの副作用として、発熱、全身倦怠が発生する。近年、転移性腎細胞癌に対する免疫療法の奏効率向上のため、インターロイキン 2 に代表される他のサイトカインやインターフェロンと各種抗癌剤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に発生する。また、インターフェロンと各種抗癌剤との併用効果も臨床的には確認されておらず、明らかにこれまでのインターフェロンの単独療法の奏効率を上回る治療法は認められていないのが現状である。また、腎細胞癌は化学療法に抵抗性の癌といわれており、その奏効率も 10%未満である。放射線療法に関しても、骨転移に対して疼痛の緩和など、対症療法としての効果はあるが、転移性腎細胞癌患者の生存期間の延長を明らかに認めたという報告はない。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 <math>\alpha</math> 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 <math>\alpha</math> 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 <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)で処理した場合に、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白で処理した場合に比べてもはるかに高い細胞障害活性がみられ、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白処理では誘導できないアポトーシスが IAB-1 処理によって効率よく誘導できることを報告している。さらに同遺伝子が導入され、発現された腎細胞癌細胞からは、局所に一定期間持続的に高濃度のヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白が産生されるので、遺伝子が導入されなかった周囲の癌細胞にも直接障害効果がおよぶことが考えられる。特に、SCID マウス 皮下移植ヒト腎細胞癌株 NC65 腫瘍に対し IAB-1 によるヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン遺伝子の複数回導入を試みたところ、治療開始後 30 日目では有意な増殖抑制効果を認めた。一方、ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン蛋白投与では一時的に増殖は抑制されるものの、治療終了後比較的早期から再増殖を開始し、治療開始後 30 日の時点では有意な増殖抑制効果は認められなかった。これらのことから、基礎実験においてはインターフェロン蛋白投与を上回る治療効果を得られることが期待されている。</p> <p>そこで、IAB-1(ヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)の腎細胞癌病巣への直接投与が、進行期腎細胞癌に対する有効な治療法となり得るか否かを検討するため、今回の臨床研究を計画した。</p>
<p>遺 伝 子 の 種 類 及 び そ の 導 入 方 法</p>	<p>本遺伝子治療臨床研究で導入される遺伝子はヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン遺伝子である。遺伝子導入用プラスミドの調製方法としては、制限酵素 <i>Sma</i> I 及び <i>Hind</i> III で消化してえられたヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン構造遺伝子を含む断片を動物細胞発現ベクター pRc/RSV (Invitrogen 社)の制限酵素 <i>Xba</i> I 及び <i>Hind</i> III 部位に挿入することによりヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFN <math>\beta</math> を構築している。さらに、制限酵素 <i>Bam</i> HI で消化して約 2kb の不要な断片を欠失させ、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-IFN <math>\beta</math> (3,674bp)を得ている。</p> <p>また、Transformant の調製と導入プラスミドの大量調製および純度検定については、臨床応用に十分に耐えうる純度の導入プラスミドであることが確認されている。</p> <p>腎細胞癌転移巣への遺伝子導入は前述のヒト <math>\beta</math> 型インターフェロンの cDNA を組み込んだ遺伝子発現プラスミドを正電荷多重膜リポソーム[構成成分; N-(<math>\alpha</math>-トリメチルアンモニオアセチル)-ジドデシル-D- グルタメイト クロライド (TMAG)、ジラウロイル-ホスファチジルコリン (DLPC) 、ジオレオイル-ホスファチジリエタノールアミン (DOPE)]に包埋して行う。粒子径は 0.5-2 <math>\mu</math>m である。このようにして調製された、内部にヒト <math>\beta</math> 型インターフェロン発現プラスミドを包埋する正電荷リポソーム製剤が IAB-1 である。なお、この IAB-1 の調製法は名古屋大学でグリオーマに対して、信州大学で悪性黒色腫に対して行われた遺伝子治療の臨床研究で用いられた IAB-1 と同じである。主としてエンドサイトーシスの機序で内容物(プラスミド DNA)が細胞内へ取り込まれ、その遺伝子導入効率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 μ M 以下では毒性はほとんど認められず、細胞増殖も抑制されない。生体内分布と時間的移行については、IAB-1 をマウスの脳内に投与した後の各臓器への移行により検討を行っている。臨床用量の約 10 倍のプラスミドが投与されているが、1ヶ月後の結果からは、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考えられる。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 μ g とした。これは、信州大学の 1 回あたり最大投与量 150 μ g DNA、最大総投与量 2.7 mg DNA および名古屋大学の 1 回あたり最大投与量 30 μ g DNA、最大総投与量 180 μ g DNA を上回る投与量である。なお、上記のごとく信州大学医学部附属病院では 5 例の悪性黒色腫患者に、名古屋大学医学部附属病院では 5 例のグリオーマ患者に、IAB-1 が投与されたが、とくに問題となる副作用は認められなかった。本製剤の抗腫瘍効果を始めとする薬理作用や生体内での薬物動態についてもラット及びカニクイザルを用いた静脈内及び脳内投与試験で確認されている。本研究での最大投与量である DNA 量 250 μ g はラットでの静脈内連日投与試験の結果より算出される 1 回投与最大量の約 40% となる。また、本研究での最大投与量である DNA 量 250 μ g にて 3 コースの治療を受けた場合の総投与量は、ラットでの静脈内連日投与試験の結果より算出される投与限界量よりはるかに低く (男性 14%、女性 9%)、1 回投与量、総投与量とも安全量の範囲内であると考えられる。なお、IAB-1 製剤の品質については、pH、浸透圧比、純度試験、発熱性物質試験、無菌試験を含む対象項目につき保存されている凍結乾燥製剤の品質規格試験を行い、品質の安定性と安全性の確保を行っている。</p>
<p>遺伝子治療臨床研究の実施が可能と判断する理由</p>	<p>前項で記載したように、遺伝子製剤 IAB-1 は我々が共同研究者と共に名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて作製し、当施設へ運搬し、使用するまで安全に保管、管理する予定であるが、その設備が名古屋大学、京都府立医科大学共に十分備わっている。</p> <p>京都府立医科大学附属病院は大学等における遺伝子治療臨床研究に関するガイドラインの要項を満たし、京都府立医科大学附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会も置かれている。総括責任者の三木および共同研究者(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87.5<math>\mu</math>l]）内に、30<math>\mu</math>gのDNAを注入（0.34<math>\mu</math>gDNA/<math>\mu</math>l腫瘍）することにより、腫瘍の増殖の抑制が認められた。本遺伝子治療臨床研究で同様の割合で、IAB-1を用いると、腫瘍体積の約2倍の容積の製剤の投与が必要となるため、投与の上限を物理的に投与可能と思われる腫瘍体積と同容積まで、もしくはDNA 250<math>\mu</math>gとした。</p> <p>以上のように、本臨床研究チームは、研究遂行に必要な十分な能力を備えており、万全の体制を整えているといえる。</p>
<p>実施計画</p>	<p>1. 本臨床研究の対象者の適格基準及び除外基準 選択基準</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>① 原発腫瘍病巣を手術で摘除し、病理組織学的に腎細胞癌の診断が確定している転移を有する患者（臨床病期IV期もしくは術後に転移を認めた場合）。</li> <li>② 本臨床研究への参加について、十分な同意（インフォームドコンセント）が得られている患者。</li> <li>③ 治療前に肉眼的あるいは胸部 X 線写真、超音波、CT、MRI などの画像検査で、腫瘍径などの評価可能な病変を有する患者。</li> <li>④ 転移巣に対して、これまで有効性が確認されているインターフェロン、インターロイキン2を含む免疫療法およびスニチニブ、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。</li> <li>⑤ 生命予後が6ヶ月以上と考えられる患者。</li> <li>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</li> </ol>

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下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  $\mu$ 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)<sup>2</sup> $\times$ 0.5(ml)]と同容積とし、1回当たりの注入最大 DNA 総量は 250  $\mu$ 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  $\mu$ 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 し、1回当たりの DNA 注入総量を 250  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の発現(蛋白量、mRNA)の有無とその程度について可能な限り検討する。

4) 入院中は週 1~3 回、尿および末梢血を採取し、各種血液・生化学検査を施行する。

5) 免疫学的検討事項

免疫学的検討事項を以下に示す。

(1) 摘出組織

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

(2) 血液(投与日は、投与の前後で)

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

(3) 尿(投与日は、投与の前後で)

- ・ PCR(plasmid DNA)

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

5. 遺伝子治療臨床研究の評価方法、評価基準及び中止判定基準

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

① 安全性の評価と実行計画

理学的所見、血液、尿の検査所見、免疫学的検査、遺伝子発現などの検索により行う。Grade 4 の有害反応がみられたら、直ちに治療を中止し、適切な処置を施す。Grade 3 の有害反応が出現した際は、主治医は速やかに総括責任者および遺伝子治療審査委員会審査委員長に報告するものとし、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  (1) 遺伝子治療製剤が最初に投与された日からの生存期間  (2) Performance Status の変化</p> <p>③ 中止判定基準  1) 重篤な副作用とは以下に示すような生命に直接危機を及ぼす可能性のあるものと定義し、これが発生し、かつ今後治療の継続が困難と判断された場合、中止する。  (1) 外科的治療が必要とされる出血  (2) アナフィラキシーショック  (3) その他、重篤な臓器障害</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  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 <math>\mu</math>g という比較的大量のプラスミド DNA を皮下、リンパ節、肝臓、腎臓、副腎、後腹膜、胸壁などに対し週 1 回、計 6 回注入している。副作用として、注入部痛(軽度;5 例、中等度;3 例)、倦怠、筋肉痛、発熱、悪寒などの全身症状(軽度;19 例、中等度;4 例)、疲労 6 例(軽度)、嘔気 3 例(軽度もしくは中等度)、アレルギー反応(中等度; 1例)が、報告されているが、重篤な副作用は認められなかった。治療開始後の生存期間は、2-72 ヶ月(中央値 11 ヶ月)で、1年生存率が 48%、3 年生存率が 19%と報告されている。</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	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	Day36 治療後
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 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					
腫瘍径の測定	○	○	○	○	○
血液検査	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○
安全性の評価	○	○	○	○	○
腫瘍生検 (病理検査、 免疫染色、遺伝子発現)					
プラスミドDNAのPCR (血液、尿)	○				○
血中抗プラスミド抗体	○				○
血中サイトカイン	○				○
血中CD4/8	○				○

(上記のように1コースを11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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」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、 $\alpha$ 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、 $\alpha$ 型および $\gamma$ 型インターフェロンは保険適用となっているが、 $\beta$ 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 $\alpha$ 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 $\beta$ 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、 $\alpha$ 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、 $\beta$ 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、 $\beta$ 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 $\beta$ 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、 $\beta$ 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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤投与が、ヒト $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤は、名古屋大学医学部附属病院遺伝子・再生医療センターにおいて作製し、その凍結乾燥剤をドライアイス入り発泡スチロール箱に入れて京都府立医科大学附属病院へ運搬し、専用の4℃冷蔵庫に保管、管理し、生物活性を確認後に臨床研究に供される。

本製剤は、非ウィルス性遺伝子導入ベクターであり、増殖性ウィルス出現の可能性は

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

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

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

### 3 品質等の確認

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

また、輸送および使用方法は、同じく2003年7月から厚生労働省、文部科学省の了承を得て、信州大学医学部附属病院皮膚科において悪性黒色腫に対して実施のものと同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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)	12
7. これまでの研究成果と文献的考察	13
(1) ヒト $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ 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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細

胞癌の遺伝子治療臨床研究のための説明書・同意書

資料 10:ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎

細胞癌の遺伝子治療臨床研究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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行

期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究

## 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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を作製し、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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤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とも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 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  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤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<sup>1)</sup>。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<sup>2)</sup>。

##### 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<sup>1, 2)</sup>。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<sup>1, 2)</sup>。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<sup>1)</sup>。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<sup>1)</sup>。

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<sup>3, 4)</sup>。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、 $\alpha$ 型インターフェロン・ $\gamma$ 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、 $\beta$ 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 $\alpha$ 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<sup>5, 6)</sup>。 $\alpha$ 型と $\beta$ 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、 $\beta$ 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 $\alpha$ 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 $\beta$ 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 $\alpha$ 型インターフェロンでも、単独療法での奏効率は約15~20%と満足のいくものではない<sup>1, 3, 4, 7)</sup>。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 $\alpha$ 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<sup>3, 7-9)</sup>。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<sup>7)</sup>。

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<sup>10-11)</sup>。スニチニブと $\alpha$ 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 $\alpha$ 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<sup>12)</sup>。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医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<sup>13)</sup>。

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<sup>14)</sup>。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<sup>14-18)</sup>、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。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<sup>3, 4, 7-9)</sup>。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 $\beta$  を包埋した IAB-1[以下、IAB-1(pSV2IFN $\beta$ )と略す]で処理した場合に、ヒト $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ )処理によって効率よく誘導できることを報告している<sup>19)</sup>。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 $\beta$ 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 $\beta$ )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<sup>19)</sup>。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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤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 $\beta$ )処理を行い検討したが、有意なヒト $\beta$ 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<sup>19)</sup>。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 $\beta$ )は、ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤であり、使用したプラスミド(pSV2IFN $\beta$ )では、SV40 early プロモーターの下流にヒト $\beta$ 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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤[以下、IAB-1(pDRSV-IFN $\beta$ )と略す]に含まれるプラスミド(pDRSV-IFN $\beta$ )では、ヒト $\beta$ 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 $\beta$ 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 $\beta$ )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 $\beta$ )による遺伝子治療でも、IAB-1(pDRSV-IFN $\beta$ )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。

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 $\beta$ )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 $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$  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 $\beta$  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

本研究は正電荷リポ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  $\beta$  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。本リポ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  $\beta$  型インターフェロン cDNA は Taniguchi ら<sup>20)</sup>がクローニングしたものを正式な惠与を受けて使用した。惠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  $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$  型インターフェロン発現ベクター pRSV-IFN  $\beta$  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  $\beta$  (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。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  $\leq 10$  EU/mg、DNA 均一性  $>90\%$ 、RNA: 検出されず、大腸菌染色体 DNA  $\leq 10 \mu\text{g/mg}$ 、タンパク質  $\leq 10 \mu\text{g/mg}$ 、A260/280:1.75 - 2.00。

#### (6) IAB-1 (ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)

癌細胞株に対する抗腫瘍効果は、pSV2IFN  $\beta$  を内部に包埋した IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ ) 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  $\beta$  の発現効率及び抗腫瘍効果が pSV2IFN  $\beta$  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  $\beta$ )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  $\beta$ )の抗腫瘍効果も、IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ )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  $\beta$ )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  $\beta$  を内部に包埋した IAB-1(pDRSV-IFN  $\beta$ )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-( $\alpha$ -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-ホスファチジリエタノールアミン (DOPE) から作製され、これに 1mg/ml の濃度の pDRSV-IFN  $\beta$  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  $2 \mu\text{m}$  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  $\beta$ )が調製される。このようにしてヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤が得られる。リポソームの粒子径は  $0.5\text{-}2.0 \mu\text{m}$  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  $\beta$  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  $\beta$ )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。リポソーム製剤の規格は米国などのリポフェクション型リポ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 $\beta$ 型インターフェロンとその腎細胞癌への効果

ヒト  $\beta$  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<sup>5,6)</sup>。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  $\alpha$  型および  $\gamma$  型インターフェロンが保険適用となっており、 $\beta$  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  $\alpha$  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<sup>3,4)</sup>、ほぼ同様の生物学的活性を持つと考えられた  $\beta$  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、 $\alpha$  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、 $\beta$  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。 $\beta$  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、 $\alpha$  型インターフェロンとほぼ同等であった<sup>5,6)</sup>。

本邦では、 $\beta$  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  $\beta$  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ると、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、 $\beta$  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<sup>14-17</sup>、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<sup>21</sup>。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<sup>14</sup>。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リ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 $\beta$ 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、 $5.0 \times 10^4$ 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  $\beta$ ) で処理し、一定時間後の培養上清中のヒト  $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$  型インターフェロンの分泌が認められた<sup>19</sup>。

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  $\beta$ ) 注入 3 日後、腫瘍組織内にはヒト  $\beta$  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  $\beta$ ) 処理を行い検討してみたが、有意なヒト  $\beta$  型インターフェロンの分泌は認められなかった<sup>19</sup>。

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<sup>22)</sup>。また、腎細胞癌株に対する *in vivo* 動物実験でも、IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ ) 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  $\beta$  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<sup>19)</sup>。さらに IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ ) 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 $\beta$ 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  $5.0 \times 10^4$  個の細胞を各ウェルに入れ、24 時間培養後、IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ ) 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  $\beta$  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  $\beta$ ) 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、ヒト腎近位尿細管細胞 (RPTEC5899) に対し IAB-1(pSV2IFN  $\beta$ ) 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  $\beta$  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<sup>19)</sup>。

ヒト  $\beta$  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<sup>23)</sup>。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  $\beta$  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  $\beta$ ) によるヒト  $\beta$  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に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<sup>19)</sup>。

また、本遺伝子治療によってヒト  $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$ )によるヒト  $\beta$  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  $\beta$  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<sup>19)</sup>。

## 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  $\beta$ )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  $\beta$ )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  $3 \times 10^{10}$  個プラスミド/ $\mu\text{l}$  の pDRSV-IFN  $\beta$  を  $50 \mu\text{l}$ ) の pDRSV-IFN  $\beta$  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  $6 \times 10^2$ - $9 \times 10^4$  個プラスミド/mg (組織) となっていた。体重あたりの投与量と比較すると、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  $1.2 \times 10^3$ - $1.8 \times 10^3$  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  $\beta$ )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 $\beta$ )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<sup>19)</sup>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 $\beta$ )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 $\beta$ )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 ヶ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 $\beta$ )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 $\beta$  100、300、1000  $\mu$ g/kg の IAB-1 の投与にて投与翌日にのみ 300  $\mu$ 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  $\mu$ g/kg 以上投与の群で白血球増加が、1000  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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 $\beta$  30、100、300  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\beta$  300  $\mu$  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  $\mu$  g/kg、雌で 100  $\mu$  g/kg と判断された。なお、ラット静脈内投与試験では、100  $\mu$  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  $\mu$  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  $\mu$  g までは安全であり、女性ではそれ以上の量の pDRSV-IFN  $\beta$  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  $\mu$  g/kg を連日 8 週間投与までの、雌で 100  $\mu$  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  $\mu$  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  $\mu$  g となり、本臨床研究の 1 回投与量上限(250  $\mu$  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  $\mu$  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  $\beta$  300  $\mu$  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  $\mu$  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  $\mu$  g/kg となるので、その 1/2 の 5  $\mu$  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  $\mu$  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  $\mu$  g の DNA を用いている。最近、1回最大使用量を 1,500  $\mu$  g および 4,000  $\mu$  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<sup>24) 29)</sup>。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<sup>25)</sup>。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イ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<sup>24, 26)</sup>。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  $\mu$ g 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  $\mu$ g DNA、最大総投与量 2.7 mg DNA および名古屋大学の 1 回あたり最大投与量 30  $\mu$ g DNA、最大総投与量 180  $\mu$ g 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  $\mu$ l])内に、30  $\mu$ g の DNA を注入(0.34  $\mu$ gDNA/ $\mu$ l腫瘍)することにより、腫瘍の増殖の抑制が認められた。本遺伝子治療臨床研究で同様の割合で、IAB-1 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 $\beta$ )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  $\beta$  型インターフェロンの分泌は認められなかった<sup>19)</sup>。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 $\beta$  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  $\beta$  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 300x10<sup>4</sup>IU のヒト  $\beta$  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  $\beta$  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  $\beta$ )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/  $\mu$ l
- 血小板数 > 100,000/  $\mu$ l
- ヘモグロビン > 8.5 g/dl
- 出血・凝固時間: 正常値範囲内
- 血清ビリルビン < 2.5 mg/dl
- sGOT・sGPT < 50 U/l
- 血清クレアチニン < 1.5 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、担当医の判断で不適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

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 年間で予定する。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  $\mu$ 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)<sup>2</sup> $\times$ 0.5(ml)]と同容積とし、1回当たりの注入最大 DNA 総量は 250  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ 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<sup>®</sup>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  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の発現(蛋白質量、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- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , 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 $\beta$  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 $\beta$  に対する抗体を EIA(enzymeimmunoassay)で測定
- ・ サイトカインアッセイ: IFN- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6 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 $\beta$  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  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の腫瘍内での発現の有無、②ヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子の導入により腫瘍細胞のアポトーシスが誘導されているか否か、③腫瘍局所へ NK 細胞や細胞障害性 T リンパ球が誘導されるか否かに重点を置いて検討する。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	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	Day36 治療後
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 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					
腫瘍径の測定	○	○	○	○	○
血液検査	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○
安全性の評価		○	○	○	○
腫瘍生検 (病理検査、 免疫染色、遺伝子発現)					
プラスミドDNAのPCR (血液、尿)	○				○
血中抗プラスミド抗体	○				○
血中サイトカイン	○				○
血中CD4/8	○				○

(上記のように1コースを11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	○

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<sup>®</sup>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<sup>27)</sup>。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<sup>28)</sup>。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ポソーム
遺伝子	GM-CSF	GM-CSF(+vs(-)二重盲目無作為試験	Interleukin-2
用法・用量	皮内注射 総投与回数 6-17回(平均 12回) 総接種細胞数 1.4-3.7x10 <sup>8</sup> 個 (平均 2.6x10 <sup>8</sup> 個)	皮内注射および皮下注射 総接種細胞数 (4x10 <sup>6</sup> 個、4x10 <sup>7</sup> 個、4x10 <sup>8</sup> 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ポ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<sup>29)</sup>。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  $\mu$ 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  $\mu$ 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  $\mu$ g まで増量し同様の遺伝子治療を施行した<sup>24)</sup>。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<sup>30)</sup>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<sup>29)</sup>。また、シンガポール大学の Hui ら<sup>31)</sup>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<sup>32)</sup>、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<sup>33)</sup>。

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<sup>14-18)</sup>。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 $\beta$  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<sup>17, 18)</sup>。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 $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤(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<sup>34)</sup>。

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 $\mu$ g(2回/週) 30 $\mu$ g(1回/週)	10 $\mu$ g/病変(1cm未満:1病変;2例、3病変;2例) 30 $\mu$ g/病変(1cm以上2cm未満:1病変;2例)
投与間隔	4例:30 $\mu$ g/回、1回/週 1例:1回目:30 $\mu$ g/回、2-6回目:15 $\mu$ 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 $\mu$ g (30-120 $\mu$ g)	平均:132 $\mu$ g (60 $\mu$ g:2例、180 $\mu$ 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ポソーム製剤(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<sup>34)</sup>。

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<sup>35)</sup>。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<sup>19)</sup>。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 米国ジョージズホプキンス大学 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 ウィ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  
インド國<sup>ジャカルタ</sup>ジャカルタ<sup>ンター</sup>医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-adenexal 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 Meolecular 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– $\beta$  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 hippostason (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 cesicoureteral 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- $\beta$  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 10<sup>th</sup> 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 4<sup>th</sup> seminar of the International Ccooperative 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 4<sup>th</sup> seminar of the International Ccooperative 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. Ohihara 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 angiogenes is in prostate. *Urology* 57, 376-381, 2001
15. Okihara K, Babaian RJ. Improcing 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 wpecific 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 <sup>99</sup>Tc(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. *Hepatology* 2008 Jul-Aug;55(8):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- $\beta$  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  $^{123}\text{I}$  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" Spronger-verlag, Tokyo, 1991, pp200-206.
8. 7. 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- $\alpha$  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- $\gamma$ , 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 <sup>131</sup>I labeled monoclonal antibody G-22, positron emission tomography and magnetic resonance imaging. Annuals 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. 16. 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. 17. 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 Neurichirur (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- $\gamma$ . 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- $\alpha$ . *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- $\alpha$  (rH-TNF $\alpha$ ) and Liposome-entrapped rH-TNF $\alpha$ . *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- $\beta$  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- $\beta$  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 IIa 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 b, 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- $\beta$ , 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. 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, Takanoashi 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, Takanoashi 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 HuIFN- $\beta$  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- $\beta$  : 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 <sup>123</sup>I 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  $\beta$ -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- $\beta$  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- $\beta$  in glioma cells. *Neurol Med Chir* 31, 485-489, 1991
  41. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Secretion of human  $\beta$ -interferon into the cystic fluid of glioma transfected with the interferon- $\beta$  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- $\beta$ , 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- $\alpha$  for malignant glioma. *J Neurosurg* 77, 78-83, 1992
  46. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Antitumor effect of endogenous human  $\beta$ -interferon on malignant glioma and augmentation of the effect by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *J Clin Biochem Nutr* 12, 153-160, 1992
  47. Yagi G, Mizuno M, Yoshida J. Cytotoxicity of human  $\beta$ - and  $\gamma$ -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- $\alpha$  gene. Its enhancement by prior  $\gamma$  Interferon treatment. *Neurol Med Chir* 32, 873-876, 1992
  49. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Cytotoxicity of human  $\beta$ -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- $\alpha$  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 <sup>131</sup>I 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- $\beta$  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  $\gamma$ -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- $\beta$  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  $\beta$ -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  $\beta$ . *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- $\beta$  produced in situ by gene delivery. *Environ Med* 39, 33-36, 1995
65. Mizuno M, Yoshida J. Tumor necrosis factor  $\alpha$  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- $\alpha$ . *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- $\alpha$ . *Neuro Med Chir* 37, 392-398, 1997
74. Mizuno M, Yoshida J. Effect of human interferon- $\beta$  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- $\beta$  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- $\beta$  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- $\kappa$ B activation confers sensitivity to TNF $\alpha$  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- $\beta$  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- $\beta$ , 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- $\beta$  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 Surgcal 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- $\alpha$  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  $\beta$ -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- $\beta$  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 <sup>123</sup>I 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  $\beta$ -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- $\beta$  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, Nishikawa 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- $\alpha$  for malignant glioma. *J Neurosurg* 77, 78-83, 1992
10. Yoshida J, Mizuno M, Yagi K. Antitumor effect of endogenous human  $\beta$ -interferon on malignant glioma and augmentation of the effect by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *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- $\alpha$ . Its enhancement by prior  $\gamma$ -interferon treatment. *Neurologia Medico-Chirurgica* 32, 873-876, 1992
12. Wakabayashi T, Yoshida J, Mizuno M, Kito A, Sugita K. Effectiveness of interferon- $\beta$ , 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  $\beta$ -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  $\beta$ -and  $\gamma$ -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- $\alpha$  gene. *J Neurosurg* 78, 252-256, 1993
16. Mizuno M, Yoshida J, Takaoka T, Sugita K. Liposomal transfection of human  $\gamma$ -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- $\beta$  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- $\beta$  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- $\alpha$  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- $\alpha$  and augmentation of the effect by  $\gamma$ -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  $\gamma$ -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- $\beta$ . *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- $\beta$  produced in situ by gene delivery. *Environ Med* 39, 33-36, 1995
27. Mizuno M, Yoshida J. Tumor necrosis factor- $\alpha$  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 antiglioma bifunctional antibody and tumor necrosis factor- $\alpha$ . *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- $\alpha$ . *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- $\beta$  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- $\beta$  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- $\beta$  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- $\beta$  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- $\kappa$ B activation confers sensitivity to TNF  $\alpha$  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- $\beta$  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- $\beta$ , 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, 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
  51. 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
  52. 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
  53. Kageshita T, Mizuno M, Ono T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Growth inhibition of human malignant melanoma transfected with the human interferon- $\beta$  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 vincristine for oligodendroglial 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- $\alpha$  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- $\beta$  (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, Urban 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  $\beta$ -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- $\beta$  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- $\beta$  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, Shiraiishi 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 Kiyo* 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). *日本臨床* 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

## (2) 表

表 1. 遺伝子製剤 IAB-1 の規格

試験項目	規格
性状	白色の塊ないし粉末(凍結乾燥剤)
確認試験	257~261nm に極大吸収
pH	7.0~7.6
浸透圧比	1.0~1.4(凍結乾燥剤)
純度試験(類縁物質)	15%以下
発熱性物質試験	陰性
無菌試験	適合
生物活性(pDRSV-IFN $\beta$ 15ng 当たり)	
ヒト $\beta$ 型インターフェロン産生量	150 国際単位/ml 以上
細胞増殖抑制率	30%以上
定量	
pDRSV-IFN $\beta$	0.10~0.17mg/ml(凍結乾燥剤)
リポソーム膜成分	
TMAG	3.6~7.2mg/mg-DNA
DLPC	7.8~13.8mg/mg-DNA
DOPE	9.0~16.8mg/mg-DNA
大腸菌染色体 DNA	10 $\mu$ g/mg プラスミド DNA 以下
タンパク質	10 $\mu$ g/mg プラスミド DNA 以下
エンドトキシン	10EU/mg プラスミド DNA 以下



表2-1 I A B - 1 凍結乾燥製剤の規格及び試験方法

(1) 性状

本品は白色の塊又は粉末である。

(2) 確認試験

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液をメタノール溶液で希釈 (1→10) した液につき、220 nm ~ 320 nm の吸収スペクトルを測定するとき、波長 257~ 261 nm に吸収の極大を認める。

(3) pH

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁した液の pH は 7.0~7.6 である。

(4) 浸透圧比

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁した液の浸透圧比は 1.0 ~ 1.4 である。

(5) 純度試験 (プラスミドDNA分解物)

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁した液 20  $\mu$ L に可溶化緩衝液 10  $\mu$ L を加えて溶かし、試料溶液とする。この液 15  $\mu$ L を正確にとり、50 w/v% グリセリン水溶液 20  $\mu$ L , 水 35  $\mu$ L 及び可溶化緩衝液 30  $\mu$ L を加えて混合し、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液 12  $\mu$ L につき、アガロースゲルを用いて以下の条件で電気泳動を行う。泳動後、トランスイルミネーター上でデンストグラムを測定するとき、試料溶液の主バンド以外のバンドのピークの合計面積値は標準溶液から得たピーク面積値より大きくない。

泳動条件

装置：コスモ・バイオ製ミューピッド2サブマリン型電気泳動装置

電圧：50 V

泳動時間：70 分

ゲル：0.75 w/v% アガロースゲル

泳動緩衝液：0.5  $\mu$ g/mL 臭化エチジウム混合 TAE 緩衝液

表2-2 I A B - 1 凍結乾燥製剤の規格及び試験方法

(6) 発熱性物質試験

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液に生理食塩液を加え、1 mL 中に pDRSV-IFN  $\beta$  60  $\mu$ g を含むように調製した液 1 mL/kg を投与し、発熱性物質試験を行うとき、これに適合する。

(7) 無菌試験

本品 10 個をとり、1 w/v % デオキシコール酸ナトリウム水溶液 3 mL をそれぞれ加えて内容物を溶解した液につき、無菌試験法のメンブランフィルター法により試験を行うとき、これに適合する。

(8) 生物活性試験

1) ヒトインターフェロン  $\beta$  産生試験

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。次いで、プラスチック製滅菌培養プレートに接種し( $3 \times 10^3$  cells/100  $\mu$ L/ウエル), 37  $^{\circ}$ C で一晩培養した U251 SP 細胞の上清を静かに除き、本品の表示量に従い調製した pDRSV-IFN  $\beta$  15 ng に対応する量を含むダルベッコ MEM 培地 0.1 mL を加え、37  $^{\circ}$ C で 48 時間培養後、上清をとり、ELISA 法により培養上清中のヒトインターフェロン  $\beta$  量を求めるとき、150 国際単位/mL 以上である。

2) 細胞増殖抑制試験

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。次いで、プラスチック製滅菌培養プレートに接種し( $3 \times 10^3$  cells/100  $\mu$ L/ウエル), 37  $^{\circ}$ C で一晩培養した U251 SP 細胞の上清を静かに除き、本品の表示量に従い調製した pDRSV-IFN  $\beta$  15 ng に対応する量を含むダルベッコ MEM 培地 0.1 mL を加え、37  $^{\circ}$ C で 48 時間培養後、上清を除去する。PBS を用いて細胞及びウエルを 2 回洗浄後、0.5 w/v% クリスタルバイオレット・20 vol% メタノール溶液 0.1 mL を加え、室温で 15 分間染色する。次いで、細胞及びウエルを水で余分な色素を洗浄し、乾燥させた後、33 vol% 酢酸 0.1 mL を用いて細胞からクリスタルバイオレットを抽出する。この液につきマイクロプレートリーダーを用い 600 nm の吸光度を測定し、細胞増殖抑制率を求めるとき、30 % 以上である。

表2-3 I A B - 1 凍結乾燥製剤の規格及び試験方法

(9) 定量

1) pDRSV-IFN  $\beta$

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液 0.5 mL を正確にとり、メタノールを加えて正確に 5 mL とし、試料溶液とする。別に pDRSV-IFN  $\beta$  標準原液 0.1 mL を正確にとり、膜成分定量用標準液原液 0.6 mL 及び 30 w/v% 白糖溶液 0.15 mL をそれぞれ正確に加え、メタノールを加えて正確に 5 mL とし、標準溶液とする。試料溶液及び標準溶液につき、波長 259 nm における吸光度  $A_T$  及び  $A_S$  をそれぞれ測定し、以下の式に挿入して本品 1 個に含まれる pDRSV-IFN  $\beta$  の量を求めるとき、0.10 ~ 0.17 mg の pDRSV-IFN  $\beta$  を含む。

$$pDRSV-IFN \beta \text{ の量 (mg)} = 0.02 \times A_T / A_S \times 10$$

2) リポソーム膜成分 (TMAG, DLPC, DOPE)

本品 1 個をとり、内容物に水 1 mL を加えて懸濁する。この液 0.5 mL を正確にとり、メタノール 4 mL を加えて溶かした後、直ちに 20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.6) 0.25 mL を加え、更にメタノールを加えて正確に 5 mL とし、試料溶液とする。別に TMAG 31 mg, DLPC 62 mg 及び DOPE 74 mg を精密に量り、メタノールを加えて溶解し正確に 50 mL とする。次いで、この液 1 mL を正確に量り、メタノールをそれぞれ加え、正確に 5 mL, 10 mL, 20 mL とし、検量線用標準溶液とする。試料溶液及び検量線用標準溶液 40  $\mu$ L につき、次の条件で液体クロマトグラフ法により試験を行う。各検量線標準溶液から得られたそれぞれの膜成分のピーク面積値より検量線を作成し、この検量線により試料溶液から得られた各膜分量を求めるとき、pDRSV-IFN  $\beta$  1 mg 当たり、TMAG, DLPC, DOPE をそれぞれ 3.6 ~ 7.2 mg, 7.8 ~ 13.8 mg, 9.0 ~ 16.8 mg を含む。

操作条件

検出器：紫外吸光光度計 (測定波長：210 nm)

カラム：内径約 4 mm, 長さ約 30 cm のステンレス管に 7  $\mu$ m の液体クロマトグラフ用シリカゲルを充填する。(Wakosil-7SIL-120)

カラム温度：40  $^{\circ}$ C 付近の一定温度

移動相：アセトニトリル / 3 mmol/L 過塩素酸ナトリウム・10 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.6) 混液 (171:29)

流量：DOPE, TMAG, DLPC の保持時間がそれぞれ約 6.5, 9, 20 分になるように調製する。

表2-4 I A B - 1 凍結乾燥製剤の規格及び試験方法

(10) 試液及び調製法

可溶化緩衝液：Triton X-100 10 g に 0.5 mol/L EDTA 溶液 (pH 8.0) 20 mL  
及び水を加えて 100 mL とする。

TAE 緩衝液：トリス 242 g に 酢酸 57.1 mL, 0.5 mol/L EDTA 溶液 100 mL  
及び水を加えて 1000 mL とする。この液を用時 50 倍希釈して  
泳動に用いる。

20 mmol/L リン酸塩緩衝液 (pH 2.6)：無水リン酸一ナトリウム 1.2 g を 400mL  
の水に溶解し、1 mol/L リン酸を加えて pH  
を 2.6 にした後、水で 500 mL にする。

移動相：20 mmol/L リン酸ナトリウム緩衝液 (pH 2.6) 100 mL に過塩素酸ナト  
リウム 73.5 mg を加えて溶かした後、水  
で 200 mL にする。この液 145 mL にア  
セトニトリル 855 mL を加えて混合する。

(3) 図

図 1. ヒトβ型インターフェロン cDNA を含むプラスミドの全塩基配列

10	20	30	40	50	60
GACGGATCGG	GAGATCTCCC	GATCCCCTAT	GGTGC ACTCT	CAGTACAATC	TGCTCTGATG
70	80	90	100	110	120
CCGCATAGTT	AAGCCAGTAT	CTGCTCCCT	GCTTGTGTGTT	GGAGGTCGCT	GAGTAGTGCG
130	140	150	160	170	180
CGAGCAAAAT	TTAAGCTACA	ACAAGGCAA	GGCTTGACCGA	CAATTGCATG	AAGAATCTGC
190	200	210	220	230	240
TTAGGGTTAG	GCGTTTTGCG	CTGCTTCGCG	ATGTACGGGC	CAGATATACG	CGTATCTGAG
250	260	270	280	290	300
GGGACTAGGG	TGTGTTTAGG	CGAAAAGCGG	GGCTTCGGTT	GTACGCGGTT	AGGAGTCCCC
310	320	330	340	350	360
TCAGGATATA	GTAGTTTCGC	TTTTGCATAG	GGAGGGGGAA	ATGTAGTCTT	ATGCAATACT
370	380	390	400	410	420
CTTGTAGTCT	TGCAACATGG	TAACGATGAG	TTAGCAACAT	GCCTTACAAG	GAGAGAAAAA
430	440	450	460	470	480
GCACCGTGCA	TGCCGATTGG	TGGAAGTAAG	GTGGTACGAT	CGTGCCTTAT	TAGGAAGGCA
490	500	510	520	530	540
ACAGACGGGT	CTGACATGGA	TTGGACGAAC	CACTGAATTC	CGCATTGCAG	AGATATTGTA
550	560	570	580	590	600
TTTAAGTGCC	TAGCTCGATA	CAATAAACGC	CATTTGACCA	TTCACCACAT	TGGTGTGCAC
610	620	630	640	650	660
CTCCAAGCTT	GCCTGCAGGT	CAACATGACC	AACAAGTGTC	TCCTCAAAT	TGCTCTCCTG
670	680	690	700	710	720
TTGTGCTTCT	CCACTACAGC	TCTTCCATG	AGCTACA ACT	TGCTTGGATT	CCTACAAAGA
730	740	750	760	770	780
AGCAGCAATT	TTCAGTG TCA	GAAGCTCCTG	TGGCAATTGA	ATGGGAGGCT	TGAATATTGC
790	800	810	820	830	840
CTCAAGGACA	GGATGAACTT	TGACATCCCT	GAGGAGATTA	AGCAGCTGCA	GCAGTTCAG
850	860	870	880	890	900
AAGGAGGACG	CCGCATTGAC	CATCTATGAG	ATGCTCCAGA	ACATCTTTGC	TATTTTCAGA
910	920	930	940	950	960
CAAGATTCAT	CTAGCACTGG	CTGGAATGAG	ACTATTGTTG	AGAACCTCCT	GGCTAATGTC

970	980	990	1000	1010	1020
TATCATCAGA	TAAACCATCT	GAAGACAGTC	CTGGAAGAAA	AACTGGAGAA	AGAAGATTTC
1030	1040	1050	1060	1070	1080
ACCAGGGGAA	AACTCATGAG	CAGTCTGCAC	CTGAAAAGAT	ATTATGGGAG	GATTCTGCAT
1090	1100	1110	1120	1130	1140
TACCTGAAGG	CCAAGGAGTA	CAGTCACTGT	GCCTGGACCA	TAGTCAGAGT	GGAAATCCTA
1150	1160	1170	1180	1190	1200
AGGAACTTTT	ACTTCATTAA	CAGACTTACA	GGTTACCTCC	GAAACTGAAG	ATCCCCTAGA
1210	1220	1230	1240	1250	1260
GCTCGCTGAT	CAGCCTCGAC	TGTGCCTTCT	AGTTGCCAGC	CATCTGTTGT	TTGCCCTCC
1270	1280	1290	1300	1310	1320
CCCGTGCCTT	CCTTGACCCT	GGAAGGTGCC	ACTCCCCTG	TCCTTTCCTA	ATAAAATGAG
1330	1340	1350	1360	1370	1380
GAAATTGCAT	CGCATTGTCT	GAGTAGGTGT	CATTCTATTC	TGGGGGGTGG	GGTGGGGCAG
1390	1400	1410	1420	1430	1440
GACAGCAAGG	GGGAGGATTG	GGAAGACAAT	AGCAGGCATG	CTGGGGATGC	GGTGGGCTCT
1450	1460	1470	1480	1490	1500
ATGGCTTCTG	AGGCGGAAAG	AACCAGCTGG	GGCTCGAGGG	GGGATCCGTC	GACCTCGAGA
1510	1520	1530	1540	1550	1560
GCTTGCGTA	ATCATGGTCA	TAGCTGTTTC	CTGTGTGAAA	TTGTTATCCG	CTCACAATTC
1570	1580	1590	1600	1610	1620
CACACAACAT	ACGAGCCGGA	AGCATAAAGT	GTAAAGCCTG	GGGTGCCTAA	TGAGTGAGCT
1630	1640	1650	1660	1670	1680
AACTCACATT	AATTGCGTTG	CGCTCACTGC	CCGCTTCCA	GTCGGGAAAC	CTGTCGTGCC
1690	1700	1710	1720	1730	1740
AGCTGCATTA	ATGAATCGGC	CAACGCGCGG	GGAGAGGCGG	TTTGCGTATT	GGGCGCTCTT
1750	1760	1770	1780	1790	1800
CCGCTTCCTC	GCTCACTGAC	TCGCTGCGCT	CGGTCGTTTCG	GCTGCGGCGA	GCGGTATCAG
1810	1820	1830	1840	1850	1860
CTCACTCAAA	GGCGGTAATA	CGGTTATCCA	CAGAATCAGG	GGATAACGCA	GGAAAGAACA
1870	1880	1890	1900	1910	1920
TGTGAGCAAA	AGGCCAGCAA	AAGGCCAGGA	ACCGTAAAAA	GGCCGCGTTG	CTGGCGTTTT

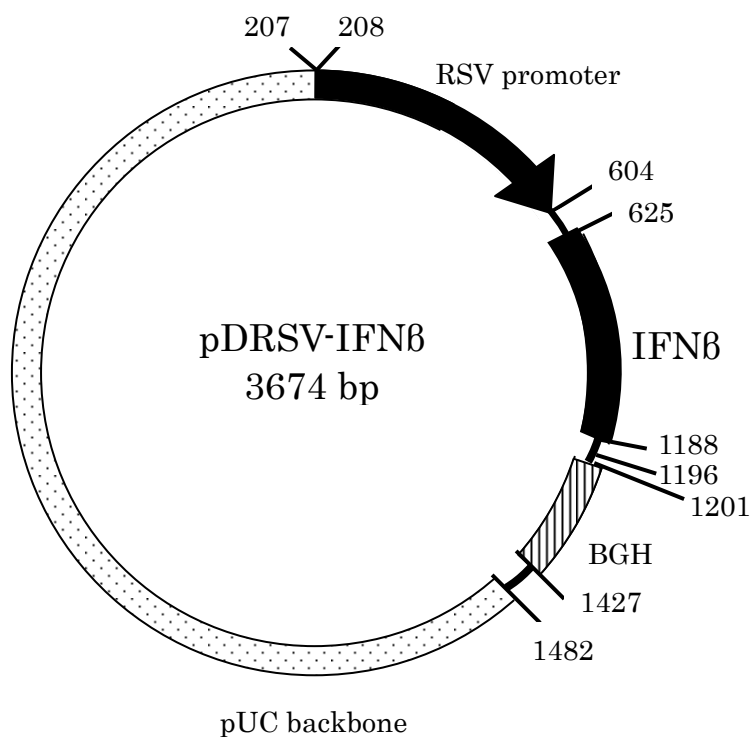
1930	1940	1950	1960	1970	1980
TCCATAGGCT	CCGCCCCCT	GACGAGCATC	ACAAAAATCG	ACGCTCAAGT	CAGAGGTGGC
1990	2000	2010	2020	2030	2040
GAAACCCGAC	AGGACTATAA	AGATACCAGG	CGTTTCCCCC	TGGAAGCTCC	CTCGTGCGCT
2050	2060	2070	2080	2090	2100
CTCCTGTTCC	GACCCTGCCG	CTTACCGGAT	ACCTGTCCGC	CTTTCTCCCT	TCGGGAAGCG
2110	2120	2130	2140	2150	2160
TGGCGCTTTC	TCATAGCTCA	CGCTGTAGGT	ATCTCAGTTC	GGTGTAGGTC	GTTCGCTCCA
2170	2180	2190	2200	2210	2220
AGCTGGGCTG	TGTGCACGAA	CCCCCGTTC	AGCCCGACCG	CTGCGCCTTA	TCCGGTAACT
2230	2240	2250	2260	2270	2280
ATCGTCTTGA	GTCCAACCCG	GTAAGACACG	ACTTATCGCC	ACTGGCAGCA	GCCACTGGTA
2290	2300	2310	2320	2330	2340
ACAGGATTAG	CAGAGCGAGG	TATGTAGGCG	GTGCTACAGA	GTTCTTGAAG	TGGTGGCCTA
2350	2360	2370	2380	2390	2400
ACTACGGCTA	CACTAGAAGA	ACAGTATTTG	GTATCTGCGC	TCTGCTGAAG	CCAGTTACCT
2410	2420	2430	2440	2450	2460
TCGGAAAAAG	AGTTGGTAGC	TCTTGATCCG	GCAAACAAAC	CACCGCTGGT	AGCGGTGGTT
2470	2480	2490	2500	2510	2520
TTTTTGTTTG	CAAGCAGCAG	ATTACGCGCA	GAAAAAAAGG	ATCTCAAGAA	GATCCTTTGA
2530	2540	2550	2560	2570	2580
TCTTTTCTAC	GGGGTCTGAC	GCTCAGTGGA	ACGAAAACCTC	ACGTTAAGGG	ATTTTGGTCA
2590	2600	2610	2620	2630	2640
TGAGATTATC	AAAAAGGATC	TTCACCTAGA	TCCTTTTAAA	TTAAAAATGA	AGTTTTAAAT
2650	2660	2670	2680	2690	2700
CAATCTAAAG	TATATATGAG	TAAACTTGGT	CTGACAGTTA	CCAATGCTTA	ATCAGTGAGG
2710	2720	2730	2740	2750	2760
CACCTATCTC	AGCGATCTGT	CTATTTTCGTT	CATCCATAGT	TGCCTGACTC	CCCGTCGTGT
2770	2780	2790	2800	2810	2820
AGATAACTAC	GATACGGGAG	GGCTTACCAT	CTGGCCCCAG	TGCTGCAATG	ATACCGCGAG
2830	2840	2850	2860	2870	2880
ACCCACGCTC	ACCGGCTCCA	GATTTATCAG	CAATAAACCA	GCCAGCCGGA	AGGGCCGAGC
2890	2900	2910	2920	2930	2940
GCAGAAGTGG	TCCTGCAACT	TTATCCGCCT	CCATCCAGTC	TATTAATTGT	TGCCGGGAAG

2950	2960	2970	2980	2990	3000
CTAGAGTAAG	TAGTTCGCCA	GTTAATAGTT	TGCGCAACGT	TGTTGCCATT	GCTACAGGCA
3010	3020	3030	3040	3050	3060
TCGTGGTGTC	ACGCTCGTCG	TTTGGTATGG	CTTCATTCAG	CTCCGGTTCC	CAACGATCAA
3070	3080	3090	3100	3110	3120
GGCGAGTTAC	ATGATCCCCC	ATGTTGTGCA	AAAAAGCGGT	TAGCTCCTTC	GGTCCTCCGA
3130	3140	3150	3160	3170	3180
TCGTTGTCAG	AAGTAAGTTG	GCCGCAGTGT	TATCACTCAT	GGTTATGGCA	GCACTGCATA
3190	3200	3210	3220	3230	3240
ATTCTCTTAC	TGTCATGCCA	TCCGTAAGAT	GCTTTTCTGT	GACTGGTGAG	TACTCAACCA
3250	3260	3270	3280	3290	3300
AGTCATTCTG	AGAATAGTGT	ATGCGGCGAC	CGAGTTGCTC	TTGCCCGGCG	TCAATACGGG
3310	3320	3330	3340	3350	3360
ATAATACCGC	GCCACATAGC	AGAACTTTAA	AAGTGCTCAT	CATTGGAAAA	CGTTCTTCGG
3370	3380	3390	3400	3410	3420
GGCGAAAAC	CTCAAGGATC	TTACCGCTGT	TGAGATCCAG	TTCGATGTAA	CCCCTCGTG
3430	3440	3450	3460	3470	3480
CACCCAAC	ATCTTCAGCA	TCTTTTACTT	TCACCAGCGT	TTCTGGGTGA	GCAAAAACAG
3490	3500	3510	3520	3530	3540
GAAGGCAAAA	TGCCGCAAAA	AAGGGAATAA	GGGCGACACG	GAAATGTTGA	ATACTCATAC
3550	3560	3570	3580	3590	3600
TCTTCCTTTT	TCAATATTAT	TGAAGCATT	ATCAGGGTTA	TTGTCTCATG	AGCGGATACA
3610	3620	3630	3640	3650	3660
TATTTGAATG	TATTTAGAAA	AATAAACAAA	TAGGGGTTC	GCGCACATTT	CCCCGAAAAG
3670	3680				
TGCCACCTGA	CGTC				

(未発表)



図2 ヒトβ型インターフェロン cDNA を含むプラスミドの遺伝子構成成分



注 1: 図内の番号は、図 1 に示した「ヒトβ型インターフェロン cDNA を含むプラスミドの全塩基配列」の番号に相当する。

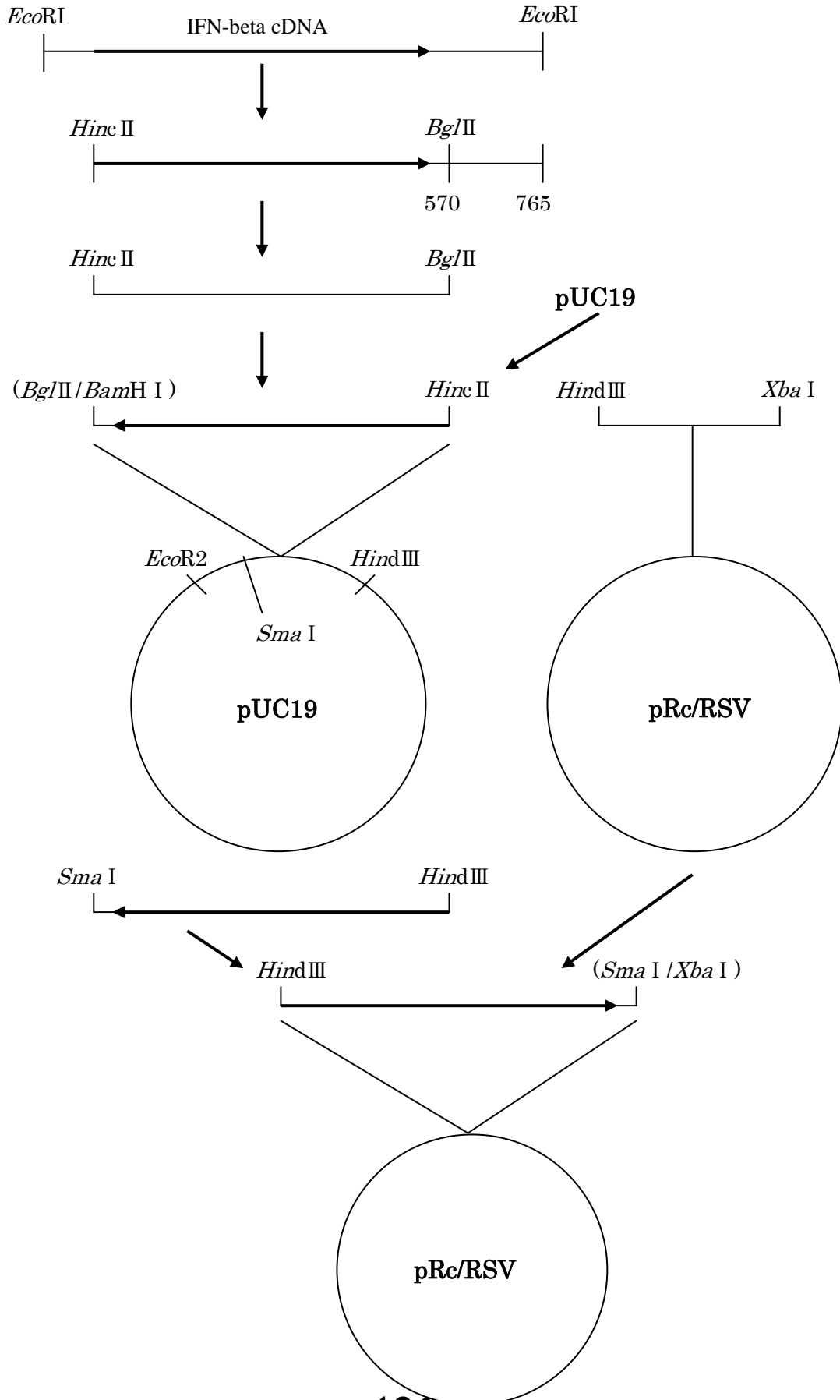
IFNβ: interferon β (注2: 625-1196 がヒトβ型インターフェロン cDNA を含む組換え配列であり、625-1188 がストップコドンを含むコーディング配列である。)

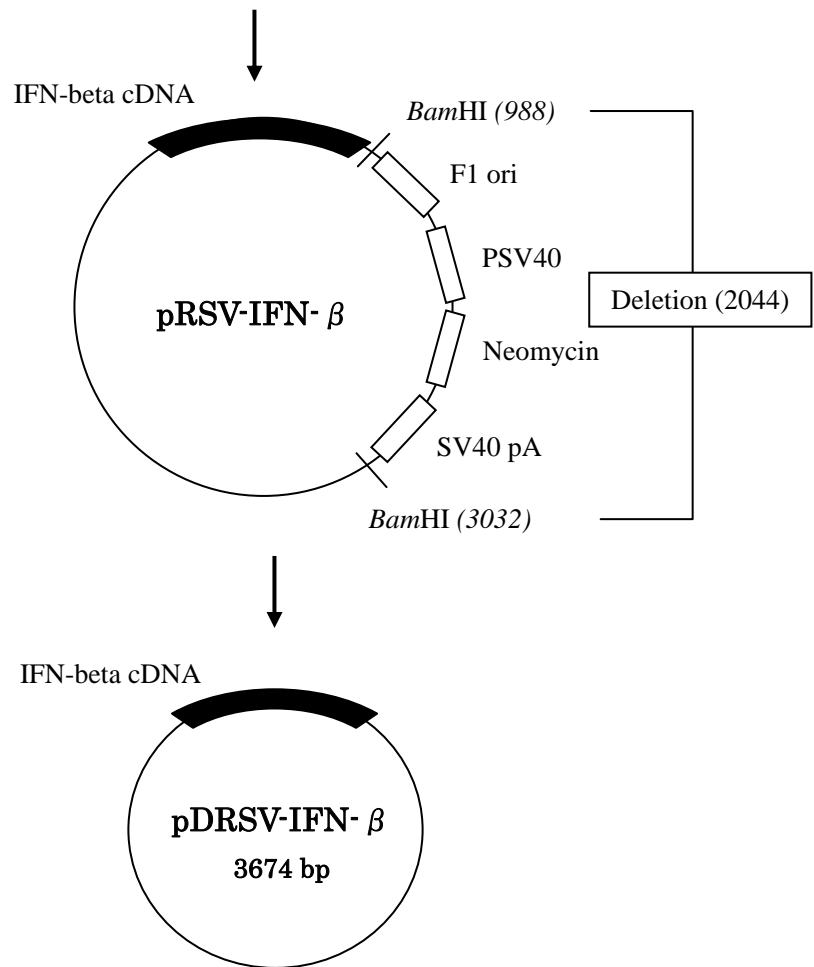
BGH: bovine growth hormone polyadenylation signal



図4. ヒトβ型インターフェロン cDNA を含むプラスミドの作製手順

供与された IFN-beta cDNA を含む DNA 断片 (約 800 base pairs) \*注 1





\*注1 : 文献 20(Gene 10, 11-15, 1980)に記載されている Hybrid plasmid TpIF319-13 の *EcoRI* サイトに組み込まれていた IFN-beta cDNA を含む約 800 base pairs の DNA 断片

資料 1

遺伝子導入に用いる正電荷リポソームの膜組成は、以下の3成分 N-( $\alpha$ -トリメチルアンモニオアセチル)-デドデシル-D-グルタメイト クロライド (TMAG)、デラウロイル-ホスファチジルコリン (DLPC)、デオレオイル-ホスファチジエタノールアミン (DOPE) からなる。この3成分をクロロホルムに溶解し、モル比がそれぞれ 1:2:2 で、総脂質量が 1  $\mu$ mol になるよう調製する。これを pyrex tube にとり、ロータリーエバポレーターを用いて減圧濃縮し、さらに真空ポンプを用いて減圧乾燥を行う。次にヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子発現プラスミド pSV2IFN- $\beta$  あるいは pDRSV-IFN  $\beta$  を 20  $\mu$ g 含むリン酸塩緩衝液を加え、約 2 分間振盪させた後、リン酸塩緩衝液を加え、再分散させ、培養細胞を用いた実験に用いた。はじめに遺伝子を含まない空のリポソームを調製し、本研究で対象とするヒトグリオーマ細胞を始め、COS-1 細胞、ヒト線維芽細胞、肝初代培養細胞など種々の細胞について毒性に関する検討を行った。その結果、ヒトグリオーマ細胞の場合は培養液中のリポソームの総脂質濃度が 20  $\mu$ M 以下ではほとんど毒性が認められず、有意な細胞増殖抑制も観察されなかった。したがって以下のヒトグリオーマ細胞を用いた基礎実験においては原則として 15  $\mu$ M の濃度のリポソームが使用されている。一方リポソームの毒性は培養細胞の種類によっていくらかの違いを認めたが、総脂質濃度が 10  $\mu$ M 以下ではほとんど毒性が認められず、細胞増殖も抑制されなかった(表)。

表 IAB-1 による細胞毒性の評価 (%)

細胞名	種類	由来	脂質濃度 (nmol/ml)			
			7.5	15	30	60
U251MG	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	8	64
U251SP	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	10	52
U251nu/nu	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	8	66
U251NN	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	6	50
U87MG	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	12	81
SK-MG-1	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	14	65
SK-MG-4	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	7	60
SK-MG-6	グリオーマ細胞	ヒト	<5	6	12	46
SK-MG-15	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	8	44
T98	グリオーマ細胞	ヒト	<5	<5	7	54
FB-9	胎児グリア細胞	ヒト	<5	<5	9	27
Tera2	奇形腫細胞	ヒト	<5	<5	8	24
HepG2	肝癌細胞	ヒト	<5	<5	9	40
Calu-1	肺癌細胞	ヒト	<5	<5	14	49
Paca2	膵臓癌細胞	ヒト	<5	7	16	37
LAK	リンパ球	ヒト	<5	<5	13	27
	線維芽細胞	ヒト	<5	<5	14	57
GL261	グリオーマ細胞	マウス	<5	<5	<5	15
MBEC	血管内皮細胞	マウス	<5	<5	11	26
NIH3T3	線維芽細胞	マウス	<5	<5	<5	25
T9	グリオーマ細胞	ラット	<5	<5	17	48
C6	グリオーマ細胞	ラット	<5	<5	12	42
GMI-R1	ミクログリア細胞	ラット	<5	<5	6	14
肝初代培養細胞	肝細胞	ラット				
COS-1	腎細胞	サル	<5	9	38	39

(未発表データ)

資料 2-1

Table . Tissue concentration of pDRSV-IFN $\beta$  for 3 month after single intracerebral administration of IAB-1 (0.12  $\mu$ g DNA/head) to male mice

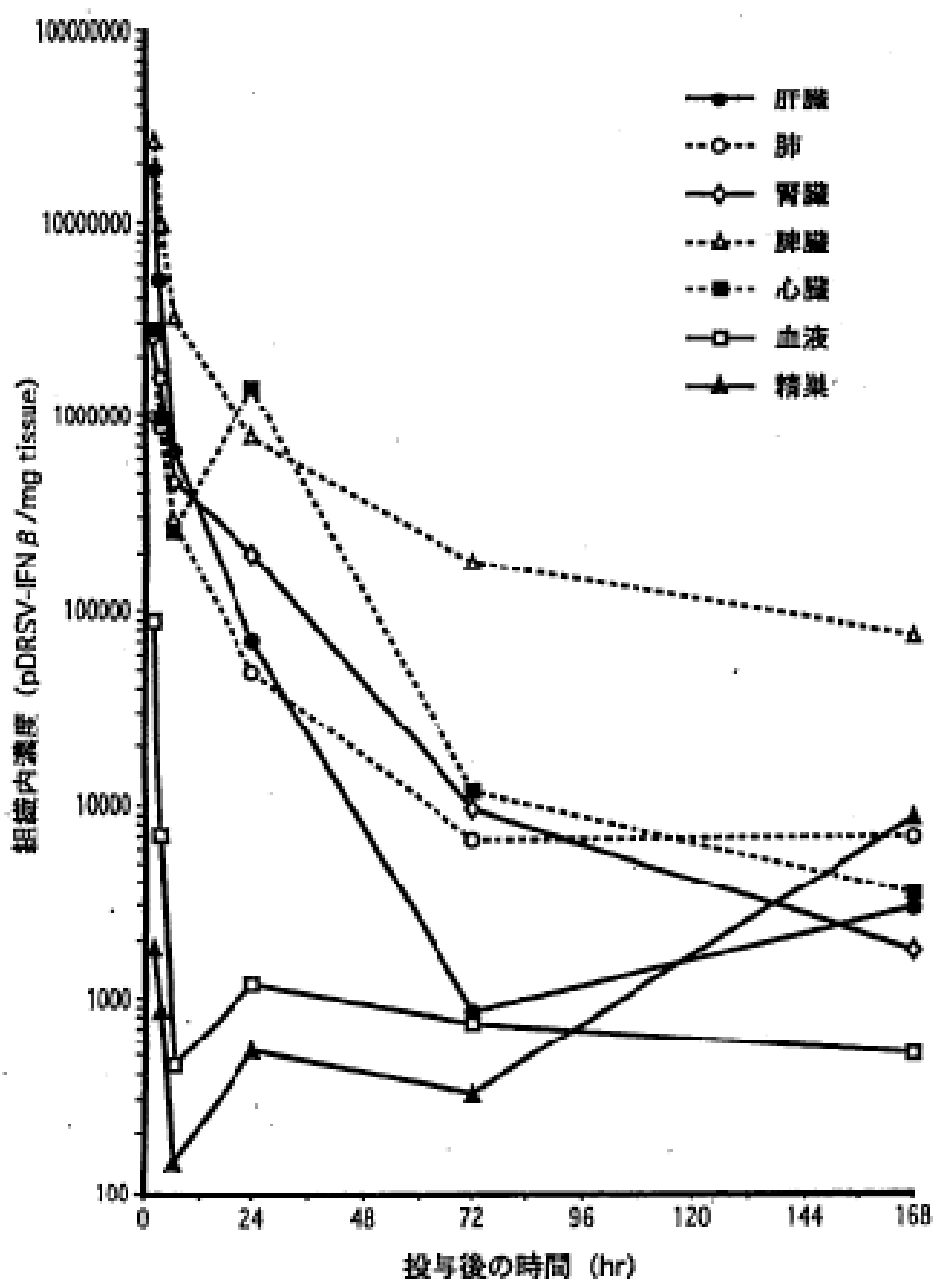
Tissue	Concentration (pDRSV-IFN $\beta$ /mg tissue)					
	1day	1week	2week	1month	2month	3month
Blood	4400	1800	1000	39	24	N. D.
Brain						
Right	45000000	27000	20000	2800	310	18
Left	170000	19000	1800	360	N. D.	N. D.
Lung	800	520	370	N. D.	N. D.	N. D.
Liver	1600	1100	320	84	N. D.	N. D.
Spleen	4000	2700	1200	140	10	N. D.
Testis	2400	710	370	N. D.	N. D.	N. D.

Results are expressed as the mean of four mice.

N. D. : not detectable (<10 pDRSV-IFN $\beta$ /mg tissue)

BALB/c A Jcl 系 SPF マウスに IAB-1 (0.12  $\mu$ g/brain) を脳内投与した後の各臓器への移行を PCR 法で検出した。正常マウスの右脳内に pDRSV-IFN $\beta$  を 0.12  $\mu$ g (約  $3 \times 10^{10}$ pDRSV-IFN $\beta$ )/0.5  $\mu$ l 注入してからの各臓器への移行を PCR 法で検出した。

## IAB-1をマウスに静脈内投与したときの pDRSV-IFN $\beta$ の経時的臓器・組織内濃度 (DNA精製とPCR法による定量)



資料 3

Stage-病期分類 (I, II, III, IV) \*3

I 期	T1	N0	M0
II 期	T2	N0	M0
III 期	T1	N1	M0
	T2	N1	M0
	T3a	N0, N1	M0
	T3b	N0, N1	M0
	T3c	N0, N1	M0
IV 期	T4	Nに関係なく	M0
	Tに関係なく	N2	M0
	T, Nに関係なく		M1

\* 3 本規約では病理学的所見に基づく病期分類を原則とする。

参考【Robson分類】(J. Urol., 101: 297-301, 1969)

I 期：腫瘍は腎被膜内限局例

II 期：腫瘍は腎被膜をこえて浸潤するが、Gerota 筋膜をこえない例

III 期：A. 腎静脈腫瘍血栓を伴う例

B. 所属リンパ節転移例

C. A + B

IV 期：A. 腫瘍は Gerota 筋膜をこえて隣接臓器へ浸潤する例

B. 遠隔転移を伴う例



資料 4

*Performance Status (ECOG : Eastern Cooperative Oncology Group)*

Grade	Performance Status
0	無症状で社会活動ができ、制限を受けることなく、発病前と同等にふるまえる。
1	軽症の症状があり、肉体労働は制限を受けるが、歩行、軽作業や坐業はできる。 例えば、軽い家事、事務など。
2	歩行や身の廻りのことはできるが、時に少し介助がいることもある。軽労働はできないが、日中の50%以上は起居している。
3	身の廻りのある程度のことはできるが、しばしば介助がいり、日中の50%以上は就床している。
4	身の廻りのこともできず、常に介助がいり、終日就床を必要としている。

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

〔平成15年8月1日〕  
京都府立医科大学訓令第78号

(目的及び設置)

第1条 京都府立医科大学附属病院（以下「附属病院」という。）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（平成14年文部科学省・厚生労働省告示第1号）に基づき審査を行うことを目的として、附属病院に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。）を置く。

(任務)

第2条 審査委員会は、附属病院長の諮問に応じ、次に掲げる業務を行うものとする。

- (1) 遺伝子治療臨床研究の実施計画を記載した書類（以下「実施計画書」という。）等に基づき、当該遺伝子治療臨床研究の実施について審査を行い、その適否及び留意事項、改善事項等について意見を提出すること。
- (2) 遺伝子治療臨床研究の実施に関する重大な変更について審査を行い、その実施の適否及び留意事項、改善事項等について意見を提出すること。
- (3) 遺伝子治療臨床研究の進行状況及び結果について報告を受け、必要に応じて調査を行い、その留意事項、改善事項等について意見を提出すること。

(組織等)

第3条 審査委員会は、次に掲げる委員をもって組織する。

- (1) 分子生物学、細胞生物学、遺伝学、臨床薬理学、病理学等の専門的知識を有する基礎医学系の教授又は准教授 5人
  - (2) 臨床医学系の教授又は准教授 3人
  - (3) 法律に関する専門家 2人
  - (4) 生命倫理に関する意見を述べるにふさわしい識見を有する者 2人
  - (5) 提出された実施計画書の対象となる疾患に係る臨床医 若干人
- 2 委員は、臨床部長会の議を経て、医学部教授会において選任する。
  - 3 第1項第1号から第4号までの委員の任期は、2年とする。ただし、委員に欠員を生じた場合の補欠の委員の任期は、前任者の残任期間とする。
  - 4 第1項第1号から第4号までの委員は、再任されることができる。
  - 5 第1項第5号の委員は、提出された実施計画書ごとに選任する。
  - 6 審査委員会は、男性委員及び女性委員双方から構成され、京都府立医科大学の教職員以外の者を2人以上含むものとする。

(委員長及び副委員長)

第4条 審査委員会に委員長及び副委員長を置く。

- 2 委員長は委員の互選により選出し、副委員長は委員長が指名する。
- 3 委員長は、会務を総理し、委員会を代表する。
- 4 委員長に事故あるときは、副委員長がその職務を代理する。

(議事)

第5条 審査委員会の会議は、委員長が招集し、委員長が議長となる。

- 2 審査委員会の会議は、委員の3分の2以上が出席し、かつ、第3条第1項第3号から第5号までの委員のうち、それぞれ1人以上が出席しなければ開くことができない。
- 3 審査の対象となっている実施計画書を提出した委員は、当該審査に参加することができない。ただし、審査委員会の同意があったときは、会議に出席し、発言することができる。
- 4 審査委員会の議事は、出席委員の3分の2以上の同意により決するものとする。

(審査の方法)

第6条 審査委員会は、第2条に掲げる事項につき、医療上の有用性及び倫理性を総合的に審査する。

- 2 審査委員会は、審査に当たり、実施計画書の総括責任者を出席させ、当該実施計画書の内容その他審査に必要な事項について、説明を求め、又は意見を聴取することができる。
- 3 審査委員会が必要と認めるときは、委員以外の者に出席を求め、その意見を聴くことができる。

(報告)

第7条 委員長は、審査終了後速やかに、その結果を書面により附属病院長に報告するものとする。

(公開等)

第8条 この規程及びこの規程に基づいて審査委員会が定めた事項は、公開するものとする。

- 2 審査委員会による審査の過程は、記録を作成し、10年間保存するものとする。
- 3 前項の記録は、個人の情報、研究の独創性及び知的財産権の保護に支障を生じるおそれのある事項を除き、公開するものとする。

(秘密の保護)

第9条 審査委員会の委員、附属病院長、実施計画書の総括責任者その他研究に携わる関係者は、遺伝子治療臨床研究を行う上で知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏

らしてはならない。

2 前項の規定は、その職を辞した後も同様とする。

(審査の公正保持)

第10条 附属病院長その他の関係者は、審査委員会における審査の公正を保持するため、審査委員会の活動の自由及び独立が保障されるよう努めなければならない。

(記録の保存)

第11条 遺伝子治療臨床研究に関する記録に関し、適切な状態の下で保存するため、附属病院に保管責任者を置く。

2 保管責任者は、附属病院事務部病院管理課長をもって充てる。

(事務)

第12条 審査委員会の事務は、附属病院事務部病院管理課において処理する。

(その他)

第13条 この規程に定めるもののほか、審査委員会の運営に関し必要な事項は、審査委員会が別に定める。

附 則

1 この訓令は、公布の日から施行する。

2 この訓令の定めるところにより最初に選任された第3条第1項第1号から第4号までの委員の任期は、第3条第3項の規定にかかわらず、平成17年3月31日までとする。

附 則

この訓令は、平成19年4月1日から施行する。

## 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

分 野		職 名	氏 名
1号委員	基礎医学系 (5名)	京都府立医科大学大学院教授 (生体機能形態科学)	横 山 尚 彦
		京都府立医科大学大学院教授 (分子病態病理学)	伏 木 信 次
		京都府立医科大学大学院教授 (病態分子薬理学)	矢 部 千 尋
		京都府立医科大学大学院准教授 (免疫・微生物学)	松 田 修
		京都府立医科大学大学院教授 (ゲノム医科学)	田 代 啓
2号委員	臨床医学系 (3名)	京都府立医科大学大学院教授 (循環器病態制御学)	松 原 弘 明
		京都府立医科大学大学院教授 (神経病態制御学)	中 川 正 法
		京都府立医科大学大学院教授 (分子病態検査医学)	谷 脇 雅 史
3号委員	法 律 (2名)	同志社大学法科大学院教授 (司法)	前 田 達 明
		龍谷大学法科大学院教授 (法務)	石 塚 伸 一
4号委員	生命倫理 (2名)	京都府立医科大学大学院教授 (医学生命倫理学)	棚 次 正 和
		大阪歯科大学准教授 (倫理学)	櫻 則 章
5号委員	対象疾患に 係る臨床医 (若干名)	大阪市立大学大学院医学研究科 教授 (泌尿器病態学)	仲 谷 達 也
		大阪医科大学医学部教授 (泌尿器科科学)	勝 岡 洋 治

## 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

#### (設置)

第1条 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（以下「規程」という。）第13条に基づき、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。）に安全・効果評価・適応判定部会（以下「部会」という。）を置く。

2 部会は、提出された実施計画書ごとに置くものとする。

#### (任務)

第2条 部会は、審査委員会の諮問に応じ、臨床研究の安全性及び効果並びに被験者の適応性に関する具体的な事項について評価及び判定を行い、その実施の適否及び留意事項、改善事項等について審査委員会に意見を提出するものとする。

#### (組織等)

第3条 部会は、次に掲げる委員をもって組織する。

- (1) 審査委員会委員長
- (2) 規程第3条第1項第1号の委員 1人
- (3) 規程第3条第1項第2号の委員 1人
- (4) 規程第3条第1項第5号の委員 2人
- (5) その他審査委員会委員長が必要と認めた者

2 委員は、審査委員会において選任する。

3 第1項第1号から第4号までの委員の任期は、審査委員会委員の職にある期間とする。

#### (部会長)

第4条 部会に部会長を置き、第3条第1項第1号の委員をもって充てる。

2 部会長は、会務を総理し、部会を代表する。

3 部会長は、部会を招集し、その議長となる。

4 部会長に事故あるときは、部会長があらかじめ指名した委員がその職務を代行する。

#### (審査)

第5条 部会は、審査に当たり、実施計画書の総括責任者その他委員以外の者を出席させ、当該実施計画書の内容その他審査に必要な事項について、説明を求め、その意見を聴くことができる。

(重大事態の報告)

第6条 部会長は、評価及び判定の結果、当該遺伝子治療臨床研究の実施について重大な事態が生じたと認めるときは、速やかにその旨を審査委員会に報告しなければならない。

(秘密の保護)

第7条 部会の委員その他部会の関係者は、任務遂行上知り得た個人に関する秘密を正当な理由なく漏らしてはならない。

2 前項の規定は、その職を辞した後も同様とする。

(事務)

第8条 部会の事務は、附属病院事務部病院管理課において処理する。

(その他)

第9条 この規程に定めるもののほか、部会の運営に関し必要な事項は、審査委員会が別に定める。

附 則

この要領は、平成16年3月15日から施行する。

## 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

分 野		職 名	氏 名
1号委員	基礎医学系	京都府立医科大学大学院教授 (分子病態病理学)	伏 木 信 次
		京都府立医科大学大学院准教授 (免疫・微生物学)	松 田 修
2号委員	臨床医学系	京都府立医科大学大学院教授 (分子病態検査医学)	谷 脇 雅 史
5号委員	対象疾患に係る臨床医	大阪市立大学大学院医学研究科教授 (泌尿器病態学)	仲 谷 達 也
		大阪医科大学医学部教授 (泌尿器科学)	勝 岡 洋 治



資料 6

RECIST guidelines

Characteristic	RECIST
Measurability of lesions at baseline	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Measurable, unidimensional (LD only, size with conventional technique <math>\geq 20\text{mm}</math>; spiral computed tomography <math>\geq 10\text{mm}</math>)</li> <li>2. Nonmeasurable: all other lesions, including small lesions. Evaluable is not recommended</li> </ol>
Objective response	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Target lesions (change in sum of LDs, maximum of 5 per organ up to 10 total [more than one organ]) <ul style="list-style-type: none"> <li>CR: disappearance of all target lesions, confirmed at <math>\geq 4</math> wk</li> <li>PR: <math>\geq 30\%</math> decrease from baseline, confirmed at 4 wk</li> <li>PD: <math>\geq 20\%</math> increase over smallest sum observed, or appearance of new lesions</li> <li>SD: neither PR or PD criteria met</li> </ul> </li> <li>2. Nontarget lesions <ul style="list-style-type: none"> <li>CR: disappearance of all target lesions and normalization of tumor markers, confirmed at <math>\geq 4</math> wk</li> <li>PD: unequivocal progression of nontarget lesions, or appearance of new lesions</li> <li>Non-PD: persistence of one or more nontarget lesions and/or tumor markers above normal limits</li> </ul> </li> </ol>
Overall response	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Best response recorded in measurable disease from treatment start to disease progression or recurrence</li> <li>2. Non-PD in nontarget lesion(s) will reduce a CR in target lesion(s) to an overall PR</li> <li>3. Non-PD in nontarget lesion(s) will not reduce a PR in target lesion(s)</li> </ol>
Duration of response	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Overall CR <ul style="list-style-type: none"> <li>From: date CR criteria first met</li> <li>To: date recurrent disease first noted</li> </ul> </li> <li>2. Overall response <ul style="list-style-type: none"> <li>From: date CR or PR criteria first met (whichever status came first)</li> <li>To: date recurrent disease or PD first noted</li> </ul> </li> <li>3. SD <ul style="list-style-type: none"> <li>From: date of treatment start</li> <li>To: date PD first noted</li> </ul> </li> </ol>

RECIST = Response Evaluation Criteria in Solid Tumors, LD = longest diameter, CR = complete response, PR = partial response, PD = progressive disease, NC = no change, SD = stable disease.

Journal of the National Cancer Institute, Vol.92, No.3, February 2, 180, 2000

## E 治療効果判定基準

### 1 非観血的治療効果判定基準

#### a. 奏効度の表現\*1

##### 1) 著効：Complete Response (CR) \*2

測定可能病変，評価可能病変および腫瘍による二次的病変がすべて消失し，新病変の出現がない場合。

##### 2) 有効：Partial Response (PR) \*3

i. 二方向測定可能病変の縮小率が50%以上であるとともに，評価可能病変および腫瘍による二次的病変が増悪せず，かつ新病変の出現しない場合。

ii. 一方向測定可能病変において，それぞれの算定式で求めた縮小率が30%以上であり，評価可能病変および腫瘍による二次的病変が増悪せず，かつ新病変の出現しない場合。

##### 3) 不変：No Change (NC) \*4

二方向測定可能病変の縮小率が50%未満，一方向測定可能病変においては縮小率が30%未満であるか，またはそれぞれの25%以内の増大にとどまり，腫瘍による二次的病変が増悪せず，かつ新病変が出現しない場合。

##### 4) 進行：Progressive Disease (PD) \*5

測定可能病変の積または径の総和が25%以上の増大，または他病変の増悪または新病変の出現がある場合。

\* 1 腎細胞癌非観血的治療効果判定基準に準じる（日本泌尿器科学会雑誌83巻4号，1992）。

同一臓器に二方向測定可能病変と，一方向測定可能病変とが共存する場合は，おのおの測定可能病変に該当する病変についてそれぞれ奏効率を求め，その臓器における総合した奏効率を求める。

\* 2 ① 測定困難，評価可能病変のうち，触診による腹部の腫瘍のみが病変である場合は，腫瘍が消失してもCRとはせずPRとする。  
② 触診による腹部の一方向あるいは二方向測定可能病変のみが病変である症例の場合は，腫瘍を触れなくなってもCRとはせずPRとする（腫大肝を含む）。  
③ 奏効持続期間は評価の基準にしないが，別記する。

\* 3 ① 測定困難，評価可能病変のうち，肺の融合性またはびまん性結節性病変，皮膚，皮下のびまん性病変，骨転移を伴うもの，またはこれらの病変のみが対象である症例については，これら病変が明らかに50%以上改善することが条件とされる。

- ② 測定困難，評価可能病変のうち，触診による腹部腫瘍を伴う症例またはこれら病変のみが対象である症例については，これら病変が明らかに50%以上改善することが条件とされる（CT等で大きさが計測できる場合は2）のi.による）。
- ③ がん性体腔液によって腫瘍に対する効果の判定が困難な症例，または体腔液のみが対象である症例は腫瘍効果の判定から除外し，別に定める基準\*により判定する。  
 ※ がん性体腔液のみの症例に対する効果については，別の判定基準，表現法を用いる（日本癌治療学会固形がん化学療法直接効果判定基準の12項参照）。
- ④ 奏効持続期間は評価の基準としないが，別記する。
- \* 4 ① 測定困難，評価可能病変を伴う症例，またはこれに該当する病変のみが対象である症例については，これら病変が\*3の①②に定めたPRの条件を満たさない場合，または観察された増悪が25%以内であることが条件とされる。
- ② 痛性体腔液を伴う症例では，体腔液の増加があっても測定可能病変の測定，または測定困難な病変の評価に支障がない範囲であること。
- ③ 持続時間を評価の基準としないが，別記する。
- ④ 二方向測定可能病変の25%以上50%未満縮小した症例は，minor response (MR) として別途に記録する。ただしMRは奏効率の算出に加えてはならない。
- \* 5 痛性体腔液の新たな出現，または著明な増加があった場合は進行とする。  
 【付】骨転移巣  
 CR：破骨性病変では，そのすべてが再石灰化すること。造骨性病変では，撮像が消失することが骨シンチグラムで確認されること。  
 PR：破骨性病変では，一カ所以上の部位でその再石灰化が認められること。造骨性病変では，骨シンチグラム上，少なくとも病変箇所の一部が uptake の減少あるいは消失を示し，他に増悪がみられない場合。  
 NC：破骨性病変では，明らかな病変の進行を示さないこと。造骨性病変では，骨シンチグラム上病変の増悪をみないこと。  
 PD：X-Pまたは骨シンチグラム上，明らかな新病変の出現かまたは病変の増悪を認めた場合。

**b. 奏効率\*6**

著効 (CR)，有効 (PR) のみを奏効として奏効率を算出し，次の2つを併記する。

$$1) \text{ 適格例*7の奏効率} = \frac{(\text{CR例数}) + (\text{PR例数})}{(\text{適格例数})} \times 100\%$$

$$2) \text{ 完全例*8の奏効率} = \frac{(\text{CR例数}) + (\text{PR例数})}{(\text{完全例数})} \times 100\%$$

- \* 6 原発巣がある症例と原発巣が切除された再発例は区別して算出する。
- \* 7 適格例とは，下記に示した条件を満たしている例。
- ① 腎原発の実質腫瘍で，組織型が判明しているもの
  - ② 測定可能な他覚的病変のあるもの
  - ③ 活動性の重複癌のないもの
  - ④ 一般的状態 (Performance Status : P.S.) が Grade 0 ~ 3 のもの

- ⑤ 腎機能, 肝機能, 骨髄機能に高度の障害のないもの
- ⑥ 重篤な合併症のないもの
- ⑦ 対象が再治療の場合は, 先行治療終了後4週間以上期間があり, かつ前治療の影響が全く認められないもの。ただし, 先行治療が無効の場合はこの限りではない。

\* 8 完全例とは, 治療開始後, 中止, 脱落, 観測不備などがなく完全に遂行できた例。

**c. 病変が複数臓器にわたる場合**

- ① 各臓器ごとの効果を「a. 奏効度の表現」の規定に従い, 別々に判定し記載する。
- ② 著効 (CR): 各臓器の病変がすべてCRに該当する効果を示した場合。
- ③ 有効 (PR): 各臓器ごとに判定された効果がすべてPRか, またはCR, PR, NCが混在するときは, CR + PRの数がNCの数と同じか, または多い場合はPRとする。
- ④ 不変 (NC): 各臓器ごとに判定された効果がすべてNCか, またはCR, PR, NCが混在するときは, NCの数がCR + PRの数より多い場合はNCとする。
- ⑤ 進行 (PD): 各臓器ごとに判定された効果のいずれかにPDがある場合はPDとする。

**d. 手術より得られた病理組織からみた奏効度の表現**

手術より十分病理組織学的に検討可能な標本が得られた場合, CRは以下のように細分する\*9。

pCR: 病理組織診にても癌病巣をまったく認めない場合。

CRs: 病理組織診にて癌病巣の残存を認めるが, 手術により病巣が完全に摘除されたと判断される場合 (PRの状態, この条件に合致した場合もCRsと記載する)。

CRr: 肉眼的に癌病巣を認めないが, 病理組織診では癌病巣の残存を認め, かつ手術により癌病巣が完全には摘出されていないと判断される場合。

\* 9 十分な手術標本を得られない場合は, cCRとのみ記載する。

## 2 組織学的治療効果判定基準\*<sup>10</sup>

腎癌に対してさまざまな治療を行った場合、抗癌剤や免疫療法剤の種類、投与量、投与方法、治療期間、放射線の質、線量、照射方法、治療期間、温熱療法の加温方法、時間、回数、動脈塞栓療法の塞栓物質の種類、量、回数と塞栓部位、およびこれらの最終治療から手術あるいは剖検までの期間により、癌組織、癌細胞にさまざまな変化と間質反応がみられる。これらの変化ならびに反応の程度によって、下記のように治療効果の程度を分類する。

### a. 判定基準分類

Grade 0：無効

癌組織、癌細胞に、治療による変性、壊死などの障害をほとんど認めない場合。

Grade 1：軽度の効果

Grade 1 - a ごく軽度の効果

癌の約1/3未満に癌細胞の変性、壊死、消失あるいは肉芽腫様病変などを認める場合。

Grade 1 - b 軽度の効果

癌の1/3以上2/3未満に癌細胞の変性、壊死、消失あるいは肉芽腫様病変などを認める場合。

Grade 2：かなりの効果

癌の約2/3以上に癌細胞の変性、壊死、消失、肉芽腫様病変ならびに線維化、硝子化、嚢胞化などを認める場合。

Grade 3：著効

癌のすべてに変性、壊死、消失、肉芽腫様病変ならびに線維化、硝子化、嚢胞化などを認める場合。

### b. 原発病巣

原発病巣の検索と治療効果判定は、原則として取扱い規約に従って作られた腫瘍の中心を通る最大断面について行う。

### c. 転移病巣

転移病巣の検索と治療効果判定は原発巣に準じて行う。

\* 10 腎細胞癌、組織学的効果判定基準に準ずる（日泌尿会誌83巻4号、1992）。

① 癌巣中心にみられる変性、壊死、出血、肉芽腫様病変ならびに線維化、硝子化あるいは嚢胞形成などの変化は、非治療例でもしばしばみられる。このような変化で治療効果とみなし得ないときは、癌先進部位における組織学的変化を重要視する。組織切片のみでは効果判定が困難な場合があるので、臨床

所見（治療前の画像所見など）や肉眼所見を参考にしなければならない。

癌細胞が生存し得ないとみなされる高度の変性ならびに壊死を効果判定の基準とする。癌細胞の核の膨化，濃縮，崩壊，消失など，細胞質の空胞化，好酸化，細胞膜の破綻など，また腺管状，乳頭状，あるいは胞巣状構造の破綻などは治療効果に含める。

壊死巣あるいは肉芽腫様病変にしばしばみられる泡沫状の組織球は，かつてそこに癌組織が存在していたことを示す重要な所見である。

- ② 原発病巣には手術ならびに剖検材料が含まれる。
  - ③ 治療効果判定のために完全に摘出された転移病巣については，原発病巣と同様の判定を行うこととする。不完全な切除材料や部分的生検材料では効果判定は行わず，個々の材料についての組織学的所見を記載するにとどめる。
-

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

有害事象名	グ レード				
	1	2	3	4	5
<b>血液/骨髄</b>					
ヘモグロビン	<LLN - 10.0 g/dL	<10.0-8.0 g/dL	<8.0-6.5 g/dL	<6.5 g/dL	死亡
白血球	<LLN - 3000 /mm <sup>3</sup>	<3000 - 2000 /mm <sup>3</sup>	<2000 - 1000 /mm <sup>3</sup>	<1000 /mm <sup>3</sup>	死亡
好中球/顆粒球	<LLN - 1500/mm <sup>3</sup>	<1500 - 1000/mm <sup>3</sup>	<1000 - 500/mm <sup>3</sup>	<500 /mm <sup>3</sup>	死亡
血小板	<LLN - 75,000/mm <sup>3</sup>	<75,000 - 50,000/mm <sup>3</sup>	<50,000 - 25,000/mm <sup>3</sup>	<25,000 /mm <sup>3</sup>	死亡
<b>代謝/臨床検査値</b>					
ビリルビン	>ULN - 1.5 × ULN	>1.5 - 3.0 × ULN	>3.0 - 10.0 × ULN	>10.0 × ULN	-
ALT, AST	>ULN -2.5 × ULN	>2.5 -5.0 × ULN	>5.0 -20.0 × ULN	>20.0 × ULN	-
アルカリホスファターゼ	>ULN -2.5 × ULN	>2.5 -5.0 × ULN	>5.0 -20.0 × ULN	>20.0 × ULN	-
クレアチニン	>ULN - 1.5 × ULN	>1.5 - 3.0 × ULN	>3.0 - 6.0 × ULN	> 6.0 × ULN	死亡
タンパク尿	1+, または 0.15 - 1.0 g/24時間	2+ ~ 3+, または >1.0 - 3.5 g/24時間	4+, または >3.5 g/24時間	ネフローゼ症候群	死亡
<b>消化器</b>					
悪心	食欲不振だが食習慣に変化なし	経口摂取量が減少するが、有意な体重減少、脱水、栄養失調は伴わない; 静脈内補液の適応<24時間	カロリーおよび水分の経口摂取不十分; ≥24時間の静脈内補液、経管栄養、またはTPNの適応	生命を脅かす病態	死亡
嘔吐	24時間に1回	24時間に2~5回; <24時間の静脈内補液の適応	24時間に≥6回; ≥24時間の静脈内補液、またはTPNの適応	生命を脅かす病態	死亡
便秘	時々または間欠的の症状; 下剤を時々使用、食事の修正、または浣腸	慢性的の症状と下剤の常用または浣腸の適応	症状のためADLに支障; 便秘のため摘便の適応	生命を脅かす病態(例、閉塞、中毒性巨大結腸)	死亡
下痢	治療前より<4回/1日の排便回数増加; 人工肛門排出が治療前に比べて軽度増加	治療前より4~6回/1日の排便回数増加; <24時間の静脈内補液の適応; 人工肛門排出が治療前に比べて中等度増加; ADLに支障なし	治療前より≥7回/1日の排便回数増加; 失禁あり; ≥24時間の静脈内補液の適応; 人工肛門排出が治療前に比べて重度の増加; ADLに支障あり	生命を脅かす病態(例、血流動態虚脱)	死亡
粘膜炎/口内炎	粘膜の紅斑	パッチ状の潰瘍形成または偽膜形成	融合性の潰瘍形成または偽膜形成; 小さい創傷からの出血	組織潰瘍; 多量の自然出血; 生命を脅かす病態	死亡
<b>出血</b>					
消化管出血	軽度、(鉄剤以外の) 医療処置の適応なし	症状あり、医療処置または小規模な焼灼術の適応	輸血、インターベンション・ラジオロジー、内視鏡、または手術による医療処置の適応; 放射線療法(すなわち出血部位の止血)	生命を脅かす病態。大規模な緊急手術の適応	死亡
泌尿生殖器出血	軽微または顕微鏡的出血; 医療処置の適応なし	著しい出血。医療処置、または尿路洗浄の適応	輸血、インターベンション・ラジオロジー、内視鏡、または手術による医療処置の適応; 放射線療法(すなわち出血部位の止血)	生命を脅かす病態; 大規模な医療処置の適応	死亡
<b>肺/上気道</b>					
呼吸困難(息切れ)	労作時呼吸困難あるが、階段の一続きを止まらずに上ることが可能	労作時呼吸困難があり。階段の一続きを止まらずに上ることは不可能だが、止まらずに1街ブロック(0.1km)歩行可能	呼吸困難あり、ADLに支障	安静時に呼吸困難; 挿管/人工呼吸器の適応	死亡
<b>全身症状</b>					
発熱	38.0 - 39.0°C	>39.0 - 40.0°C	>40.0°C ≤24時間	>40.0°C >24時間	死亡

LLN: 施設基準値下限

ULN: 施設基準値上限

(Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) 日本語訳 JCOG版より抜粋引用)

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

有害事象名	グ レード				
	1	2	3	4	5
<b>アレルギー/免疫</b>					
アレルギー反応 / 過敏症	一過性の潮紅または発疹; <38°Cの薬剤熱	発疹; 潮紅; 蕁麻疹; 呼吸 困難、≥38°Cの薬剤熱	蕁麻疹を伴うまたは伴わな い症状のある気管支けいれ ん; 非経口的治療の適応; アレルギーによる浮腫/血 管性浮腫; 血圧低下	アナフィラキシー	死亡
<b>感染</b>					
感染—その他	軽症	中等症	重症	生命を脅かす; 活動不能/動作不能	死亡
<b>不整脈/心臓一般</b>					
伝導異常/房室ブロック	無症状、医療処置の適応な し	緊急ではないが医療処置の 適応	薬物ではコントロール不十 分、または機器にてコントロ ール(例、ペースメーカー)	生命を脅かす病態(例、 CHF、低血圧、失神、ショッ クを伴う不整脈)	死亡
左心室拡張機能障害	無症状の拡張期所見; 治療 適応なし	無症状、治療の適応あり	症状を有するうっ血性心不 全、治療に反応	難治性のうっ血性心不全、 コントロール不良; 左室補助 装置、または心臓移植の適 応	死亡
左心室収縮機能障害	無症状、安静時駆出率(EF) <60-50%; 局所心筋短縮率 (SF)<30-24%	無症状、安静時、 EF<50-40%; SF<24-15%	症状を有するうっ血性心不 全。治療に反応; EF<40-20% SF<15%	難治性またはコントロール 不良のうっ血性心不全; EF<20%; 左室補助装置、 左室縮小手術、または心臓移 植の適応	死亡
心嚢液(非悪性)	無症状の滲出液	—	生理機能的影響を伴う滲出 液	生命を脅かす病態(例、タン ポナーデ); 緊急処置の適 応	死亡
心外膜炎	無症状、心電図、または身 体診察(摩擦音)で心膜炎 の所見	症状を有する心膜炎(例、 胸痛)	生理機能的影響を伴う心膜 炎(例、心膜狭窄)	生命を脅かす病態; 緊急処 置の適応	死亡
<b>その他</b>					
傾眠/意識レベル低下	—	傾眠または鎮静は機能に影 響を及ぼすが、ADLに支障 なし	鈍麻または昏迷; 覚醒困難 ; ADLに支障あり	昏睡	死亡
脱毛	薄毛、またはパッチ状脱毛	完全な脱毛	—	—	—

LLN: 施設基準値下限

ULN: 施設基準値上限

(Common Terminology Criteria for Adverse Events v3.0 (CTCAE) 日本語訳 JCOG版より抜粋引用)



資料 9

インフォームド・コンセントと患者及びその家族からの同意  
遺伝子治療臨床研究のための説明と同意書

説明日： 年 月 日

患者氏名：

説明医師名：

## 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の説明書

### 【はじめに】

あなたの病気は腎癌です。残念なことに、腎癌に有効とされる標準的治療法が行われたにも関わらず、①再発・②腫瘍の増大傾向・③従来有効とされてきた治療がこれ以上実施困難な状況を認めることから、今後の治療法の選択は大変難しい状況にあります。

そこで、我々のこれまでの研究成果などから、あなたの病状の改善が期待できる可能性のある方法である、「腎癌に対するベータ型インターフェロン遺伝子治療」について、説明させていただきたいと思います。遺伝子治療とは 遺伝子を一部取り出して加工し、これを患者さんの体内に直接もしくは間接的に投与して治療効果を得ようとする治療法です。

これまでに実施された癌に対する遺伝子治療はそれほど多くはなく、治療効果・安全性がまだ完全には確立されていません。サルなどを用いた安全性試験の結果から、今回あなたに説明する本臨床研究は比較的安全であろうと考えられますが、予測し得ない副作用が起こる可能性も否定できません。

今回説明する遺伝子治療は、少用量の同一製剤を用いたヒトの他疾患(脳腫瘍・悪性黒色腫)での臨床使用実績はありますが、今回の使用予定量は従来よりも多く、ヒトの腎細胞癌に使用されるのも今回が世界で初めてです。

また、本臨床研究は医師が実施する研究であり、文字通り研究的一面も持っています。

### 臨床研究について

新しい治療法、あるいは薬剤が一般的に使われるようになるまでには、その安全性と効果を確認しなければなりません。これを臨床研究あるいは臨床試験と言います。これまでに患者さんに行われた遺伝子治療は臨床研究などとして実施されています。

一般的に臨床研究は次の3つの段階からなっています、(1) 第Ⅰ相試験:治療あるいは薬剤の副作用を確認し、安全であるかどうかを調べる段階。(2) 第Ⅱ相試験:第Ⅰ相で確認された方法で治療を行い、その投与量で効果があるかまた安全性はどうかを調べる段階。(3) 第Ⅲ相試験:現在一般的に使用されている治療や薬剤と比較する段階。

今回あなたにご紹介する遺伝子治療も臨床研究として実施されます。さらに本臨床研究は、治療の安全性を調べることを主たる目的としており(主要エンドポイントと呼びます)、さらに治療効果を示す投与量を調べる目的も含まれています(副次エンドポイントと呼びます)。従って、本臨床研究は第Ⅰ相+第Ⅱ相試験に相当します。

これから私達が、京都府立医科大学附属病院で行われる遺伝子治療の臨床研究について文章および担当医師の口頭で説明します。以下の説明をよく読んで十分に理解していただいた上で、この臨床研究に参加されるかどうかをお考えください。

- (1) この臨床研究に参加されることは、あくまでもあなたの自由意思によるものです。したがって、一旦同意した後も随時、この臨床研究への参加を文書にて拒否できます。
- (2) この臨床研究に参加することによって、必ずしも病気が治癒するとは限りません。しかし、ほかの人々やこれからの新しい医療に役立つ多くの知見が得られることが期待できます。
- (3) 本治療法のヒトでの安全性は確認されていません。そのため予測し得ない副作用が起こる可能性もあります。
- (4) たとえこの臨床研究を断っても、あなた自身がその後の治療で不利益をこうむることはありません。

以下の説明文では、この臨床研究の特徴、期待される効果、安全性と危険性、その他の関連した事項が、次頁の目次に従って記載されています。説明の内容を十分理解した上であなたのお考えをお示し下さい。なお、あなたが抱かれている疑問については、どんな些細なことでも結構ですので、説明を行う医師にお尋ね下さい。

日時：           年    月    日

担当医師：

## 目次

### はじめに

1. あなたの病気(腎細胞癌)について
2. あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について
  - (1) 現在行われている治療法
  - (2) 今後のあなたの治療法
3. 遺伝子治療について
  - (1) 遺伝子治療とは
    - ① 遺伝子とは
    - ② 遺伝子導入担体(ベクター)とは
    - ③ 腎細胞癌に対する遺伝子治療の種類
    - ④ ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いたグリオーマ、悪性黒色腫に対する遺伝子治療
  - (2) 今回の遺伝子治療について
    - ① ヒト $\beta$ 型インターフェロン遺伝子
    - ② リポソーム
    - ③ IAB-1
    - ④ 今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由
4. 具体的な手順について
  - (1) 手順
    - ① 事前検査
    - ② 遺伝子治療の内容
    - ③ 現時点で想定できる不測の事態
  - (2) 遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について
  - (3) 遺伝子治療実施後の中止の方法について
5. 効果判定と追跡調査について
6. あなたの保護について
7. 費用について
8. 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について
9. セカンドオピニオンについて
10. 個人情報の保護について
11. 問い合わせ先
12. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制
13. 書類その他

## 1. あなたの病気(腎細胞癌)について

腎細胞癌とは血液を濾過して尿を作る腎臓という臓器に発生する癌で、40歳代から70歳代に多く発症します。男女比はおよそ2:1です。血尿やお腹の違和感で見つかることもあります。深い所にある臓器なのでなかなか症状が出にくく、症状が出てくる段階では他の臓器へ転移している場合も少なくありません。最近では人間ドックや癌検診などで行われている超音波検査で偶然発見される患者さんが増えてきています。

## 2. あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について

### (1) 現在行われている治療法

腎細胞癌の特徴は、他の癌で一般的に使われる抗癌剤などのお薬や放射線があまり効かないという事です。したがって手術で完全に摘出する事がたいへん重要です。しかし、発見が遅れた場合などのいわゆる進行した状態になると、多くの場合、周囲に広がっていくと同時に、リンパ節、肺、骨、肝臓などへ転移を起こしてきます。転移病巣が単発の場合、原発病巣(腎臓の腫瘍)および転移病巣を手術で完全に摘除できた場合の術後5年目の生存率は約30%と報告されており、転移病巣への手術の効果もある程度期待できます。また、転移病巣への手術は、骨転移病巣による神経圧迫などの、転移病巣が原因で生じている自覚症状の軽減を図ることは期待できます。しかしながら、転移病巣が多発している場合には、転移病巣への手術を行っても患者さんの予後が明らかに改善するという報告はありません。手術で取りきれないものや、転移してしまったものに対しては、インターフェロン、インターロイキンなどのサイトカインと呼ばれる蛋白を利用した薬物治療が行われています。これらのサイトカインを用いた薬物治療は患者さんの免疫力を高めることによって、癌を攻撃するので、免疫療法と呼ばれています。10~20%の患者さんはこの治療によって、癌が縮小するといわれていますが、残念ながら残りの8割程度の患者さんには効果がありません。また、この治療によって一時的に癌が小さくなくても、やがて大きくなっていく場合がほとんどです。なお、インターフェロン、インターロイキンなどのサイトカインが腎細胞癌の転移病巣の治療として使用されるようになる以前は、女性ホルモンの一種である黄体ホルモンが腎細胞癌に対する薬物治療として使用されていました。腎細胞癌に対するインターフェロンの効果を判定するために、インターフェロンと黄体ホルモンのそれぞれの効果を比較する臨床試験が海外で行われ、生存期間の延長については、中央値で8.5ヶ月と6.0ヶ月と、インターフェロンの方が長かったと報告されています。また、インターロイキンとインターフェロンが生存期間の延長に及ぼす効果は、ほぼ同等であると報告されています。近年、ソラフェニブ、スニチニブなどの分子標的治療薬が転移のある腎細胞癌の患者さんの治療に用いられるようになりました。これらの薬は、複数の酵素(分子)を選択的に阻害することにより、癌細胞の増殖とその栄養血管の増殖を抑える作用を持っています。これまでに海外で第Ⅲ相臨床試験が、国内で第Ⅱ相臨床試験が行われました。転移に対する治療がこれまでに行われていない腎細胞癌の患者さんを対象にスニチニブとインターフェロンαを比較した海外の第Ⅲ相臨床試験では、インターフェロンαによる腫瘍縮小効果が6%の患者さんに認められ、これまでに報告されているよりもやや低い効果でした。これに対して、スニチニブで

は 31%の患者さんに認められ、スニチニブの縮小効果の方が優れていることが示されました。しかしながら、スニチニブにより完全に腫瘍がなくなった患者さんは 1%未満でした。また、腫瘍の進行・増大を抑える作用についても、スニチニブの方がインターフェロン $\alpha$ よりも優れていることも示されましたが、1年後には 80~90%の患者さんで進行していました。免疫療法が無効となった転移を持つ腎細胞癌の患者さんに対して、ソラフェニブとプラセボ(偽薬)を比較した臨床試験では、プラセボの腫瘍縮小効果が 2%の患者さんに認められたのに対して、ソラフェニブでは 11%の患者さんに認められ、ソラフェニブの方が有効であることが示されましたが、ソラフェニブにより完全に腫瘍が消失した患者さんは 1%未満でした。また、腫瘍の進行・増大を抑える作用についても、ソラフェニブの方がプラセボよりも優れていることも示されましたが、1年後には 80~90%の患者さんで進行していました。国内の臨床試験でも国外とほぼ同様もしくはやや良い効果とほぼ同等もしくはやや高い頻度の副作用が報告がされました。この結果、日本国内では、2008 年よりスニチニブおよびソラフェニブの保険治療が開始されています。分子標的治療薬による治療には、従来の免疫治療よりも優れた効果や免疫療法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です。これらの治療薬は内服薬であるため、患者さんの負担は少ないと思われませんが、以下のような特有の副作用が比較的高頻度に認められることも明らかになりました: 高血圧(約 10~50%)、手足症候群(約 20~60%)、甲状腺機能低下症(約 5-15%)。これらの副作用は薬の減量または休薬で対応できることもわかってきましたが、嚴重な経過観察のもとに、投与する必要があると認識されています。

このように進行した腎細胞癌の患者さんには確実に有効な治療法が確立されていないため、新しい治療法の開発が望まれています。

## (2) 今後のあなたの治療法

健康診断での超音波検査などによる早期発見と手術療法の進歩、その後に実施されるインターフェロンなどのいわゆるサイトカインを用いた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しました。あなたに対しても、これまでの様々な過去のデータ(治療成績など)から、状況に応じ最善と考えられる治療法が行われてきました。

しかし、あなたの場合、このような治療法が行われたにも関わらず、再発または腫瘍の増大傾向が認められるか、従来有効とされてきた治療が、これ以上実施困難な状況であることから、残念ではありますが、今後の治療法の選択は大変難しい状況にあります。

今後の治療としてあなたが選択できるのは

- ① 手術(再手術の場合、腫瘍の完全な摘出は困難です。)
- ② 各種抗癌剤による化学療法
- ③ サイトカインなどを用いた免疫療法の継続
- ④ 分子標的治療薬による治療の継続
- ⑤ 国内で治験が実施されている医薬品や国内外における臨床研究段階の治療法

などがあります。しかし、上記の①②③④の治療方法は、当施設での経験およびこれまでの国内外からの報告から判断して、いずれも現在のあなたの病状に対して効果を期待することは難しい

と思われます。⑤については、骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)、癌ペプチドワクチンがあります。骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)は、HLA 適合ドナー(組織適合性がある程度同じ人:兄弟、姉妹のことが多い)より提供された骨髄を腎癌の患者さんに移植すると、移植された骨髄細胞の中の免疫細胞が癌細胞を非自己と認識し攻撃することを利用した治療方法です。国外の治療成績は、奏効率(病巣が 50%以上縮小する率)が 40-50%と良好な結果でありましたが、国内で行われた約 20 例の報告では、奏効率は約 20%で、死亡例が 1 例ありました。ミニ移植では、移植された骨髄が生着し、腫瘍に対する効果が現れるまでに、数ヶ月かかります。また、移植された骨髄細胞は癌のみならず、患者さんの正常の臓器をも攻撃するため、色々な副作用が生じます。癌ペプチドワクチンは、腎癌特異的に発現されているタンパク質のごく一部(ペプチド)を合成し、患者さんの皮下に注射することにより、患者さんの腎癌に対する免疫力を高める治療法です。注射されたペプチドは患者さんの HLA 分子(組織の型を決める分子)とともに、免疫細胞の一種に認識された後に、癌に対する免疫力が高められます。よって、用いるペプチドに合う HLA の型の患者さんにしか用いられません。近年、国内では CA9 と呼ばれる、腎癌特異的に発現しているタンパクのペプチドを用いた臨床試験が 23 名の腎癌の患者さんに対して行われました。3 例(13%)で病巣の 50%以上の縮小がみられ、6 例(26%)では、腫瘍の増大が 6ヶ月以上にわたりみられませんでした。生存期間の中央値は 21 ヶ月でした。

以上の2つの治療法については、まだ国内では保険治療として承認されておらず、長期の治療成績もまだ報告されていません。

そこで、我々のこれまでの研究成果などから、あなたの病状の改善が期待できる可能性のある方法である、“ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療”について、説明させていただきたいと思います。腎細胞癌の免疫療法として通常行われるインターフェロンを用いた治療は、腫瘍に対する全身の免疫力を強めるために、インターフェロン  $\alpha$  を皮下注射または筋肉内注射で投与します。通常、外来通院または患者さんによる自己注射で行える治療ではありますが、副作用として発熱、倦怠感などがみられます。一方、本遺伝子治療では、IAB-1(インターフェロン  $\beta$  の遺伝子を含むプラスミドをリポソームという脂質の膜に包んだもの)を CT や超音波を用いて観察しながら穿刺針を用いて、転移病巣部に直接注入します。穿刺に伴う合併症(出血、感染など)は低いながらもあるため、入院による治療が必要です。本遺伝子治療では、病変部でインターフェロン  $\beta$  の遺伝子よりインターフェロン  $\beta$  タンパクが産生され癌細胞に直接作用する効果と癌細胞に対する全身の免疫力を高める作用が期待できると考えられています(付図 1)。腎癌の培養細胞や動物の皮下に形成した腎癌を用いた基礎実験では、インターフェロン  $\beta$  タンパクを直接、病変部に投与するよりも強い治療効果がえられることを確認しています。なお、以下に各治療法の長所と短所を示します。

治療法	長所	短所	保険適応
骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)	奏効率の高い報告がある	副作用が多い ドナーが必要 効果発現が遅い(5-6ヶ月) 国内では治療関連死の報告あり	なし
癌ペプチドワクチン	副作用が少ない 治療方法が比較的簡単	HLA が適合しないと施行できない	なし
分子標的治療	癌の増殖を抑える効果がある 内服薬である 奏効率が高い	副作用が多い(高血圧、手足症候群、甲状腺機能低下症)	あり
手術	すべて摘除しえた場合には完治の可能性が見込める	侵襲(からだにかかる負担)が大きい	あり
化学療法	免疫療法との併用で効果が上がる場合あり	単独では、ほとんど効果がない	なし
サイトカインの継続	癌の増殖を抑制できることがある	副作用が多い	あり
本遺伝子治療	直接効果(癌の増殖抑制)と間接効果(癌に対する免疫力の活性化)の両方が期待できる 局所投与のため全身の副作用は低いと予想される	CT または超音波装置を用いて、針で穿刺を行う必要があり、それに伴う合併症の可能性はある	なし

### 3. 遺伝子治療について

#### (1) 遺伝子治療とは

遺伝子を一部取り出して加工し、これを患者さんの体内に直接もしくは間接的に投与して治療効果を得ようとする治療法です。直接的投与とは治療のための遺伝子を注射や点滴あるいは噴霧を使って患者さんの体内に投与する方法です。間接的投与とは、患者さんの体からリンパ球や癌細胞などを取り出し、これに治療のための遺伝子を入れて再び患者さんの体内にもどす方法です。今回私たちがお話しする遺伝子治療は直接的投与になります。

#### ① 遺伝子とは

遺伝子とは私たちの体を作っているタンパク質の設計図です。その本体は DNA(デオキシ



リボ核酸)という化学物質で、ヒトの細胞の場合、約 2 万 2 千個の設計図があるといわれています。今回の遺伝子治療ではヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子が用いられます。この遺伝子が作り出すヒト  $\beta$  型インターフェロン蛋白は以前より腎細胞癌の治療に用いられてきましたが、遺伝子を使うことで蛋白よりもっと効果的な治療効果が得られることが基礎的な動物実験などで確かめられています。

## ② 遺伝子導入担体(ベクター)とは

遺伝子を細胞に運び込むために用いられる遺伝子導入担体をベクターと呼びます。大きく分けてベクターにはウィルスベクターと非ウィルスベクターの2つがあります。ウィルスベクターとは、治療のための遺伝子を組み込んだウィルスです。もちろん本来のウィルスの持っている病原性はさまざまな方法で弱められていますが、大量に使用したときには問題が起こる可能性も指摘されています。一方、非ウィルスベクターとは合成脂質など人工的に合成されたベクターの総称です。様々な種類のものが研究・報告されていますが、今回の遺伝子治療では正電荷多重膜リポソームと呼ばれる非ウィルスベクターを用います。

## ③ 腎細胞癌に対する遺伝子治療の種類

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いました。彼らの報告によると、18 人に対し実施し、1例で腫瘍の50%以上の縮小効果を認めています。13例は治療開始後12ヶ月以内に死亡しています。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)が報告されていますが、重篤なものはありませんでした。同様の遺伝子治療は1999年から日本でも4人に対し実施されました。しかしこの臨床研究では、どの患者さんにも50%以上の腫瘍の縮小を確認できませんでした。4例ともすでに亡くなり、治療開始後の生存期間は7ヶ月、45ヶ月、72ヶ月、103ヶ月でした。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)、が報告されていますが、重篤なものはありませんでした。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ます。中でも Galanis らは、インターロイキン2遺伝子を用いた、非ウィルスベクター(正電荷リポソーム製剤;詳しくは後に述べます)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年に報告しています。使用した遺伝子は異なりますが、この臨床研究の実施方法は、私たちが行う臨床研究と比較的類似しており、同じ種類の非ウィルスベクターを用いて遺伝子治療を行っています。その報告によると、登録31症例が腎細胞癌患者であり、1例(3%)で著効、2例(6%)で有効、7例(23%)で安定、21例(68%)で進行という結果でした。また、この臨床研究では最大4,000  $\mu$ g という比較的大量のプラスミド DNA を皮下、リンパ節、肝臓、腎臓、副腎、後腹膜、胸壁などに対し週1回、計6回注入しています。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、報告されていますが、重篤な副作用は認められませんでした。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%と報告されています。

④ 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脳腫瘍(グリオーマ)、皮膚癌(悪性黒色腫)に対する遺伝子治療

今回あなたに使用予定のヒト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遺伝子治療は、5人の脳腫瘍の患者さんに対して、名古屋大学医学部附属病院にて、また、5人の皮膚癌(悪性黒色腫)の患者さんに対して、信州大学医学部附属病院において、すでに実施されています。この2つの遺伝子治療臨床研究の内容と結果のまとめを以下の表に示します。両方の遺伝子治療とも、認められた副作用はすべて軽度で、特に問題になるものはなく、遺伝子治療と直接の関連が疑われたものはわずかでした。

脳腫瘍に対する治療効果については、一時的に2人(40%)の患者さんの脳腫瘍が50%以上縮小しました。5人の脳腫瘍の患者さんとも、すでに亡くなっていますが、腫瘍が50%以上縮小した2人の患者さんが治療開始後に生存した期間は、26および29ヶ月であり、腫瘍の縮小が認められなかった3人の患者さんより、明らかに長いものでした。

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 μg(2回/週) 30 μg(1回/週)	10 μg/病変(1cm未満:1病変;2例、3病変:2例) 30 μg/病変(1cm以上2cm未満:1病変;2例)
投与間隔	4例:30 μg/回、1回/週 1例:1回目;30 μg/回、2-6回目;15 μg	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 μg(30-120 μg)	平均:132 μg(60 μg:2例、180 μg:3例)
副作用 (本治療と直接関連が薄いもの)	貧血;3例(軽度:術後一過性) 白血球減少;1例(軽度:一過性) 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)	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る)

対象疾患	悪性グリオーマ(脳腫瘍)	悪性黒色腫(皮膚癌)
	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)	
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℃)
有効性*(治療した 腫瘍の縮小効果)	有効;2例、不変;3例	完全消失;1例、不変;1例、進行;3例
有効性**(総合判定)	有効;2例、不変;3例	不変;1例、進行;3例、 増大と縮小の混在;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)

\* 有効;病変の50%以上の縮小

\*\* 有効;病変の50%以上の縮小

また、皮膚癌(悪性黒色腫)に対する効果については、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が投与された病変部のみで評価すると、1人の患者さんで完全消失しましたが、1人で不変、3人で進行しました。病変部全体での評価では、どの患者さんにも有効性を確認できませんでした。3人の皮膚癌(悪性黒色腫)の患者さんが治療開始後、6-11ヶ月で亡くなっていますが、2人の患者さんは、治療開始後12ヶ月の時点で生存しています。残念ながら、この脳腫瘍と皮膚癌の10人の患者さんの中では、最終的に癌が治った方はいません。

## (2) 今回の遺伝子治療について

今回の遺伝子治療では、癌細胞に入れる遺伝子としてヒトβ型インターフェロン遺伝子を、遺伝子を細胞内に運び込むための物質であるベクターとしてリポソームを、それぞれ用います。

### ① ヒトβ型インターフェロン遺伝子

ヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させるためにプラスミド pDRSV-IFNβを用います。プラスミド pDRSV-IFNβとは輪になったDNAで、この中にはヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させる引き金となるプロモーターとヒトβ型インターフェロン遺伝子が組み込まれています。プラスミド pDRSV-IFNβが腎細胞癌の細胞の中に入りますと、細胞の中で遺伝子が動き出してヒトβ型インターフェロン蛋白が作られます。今まで行われた培養細胞や動物を用いた実験では、ヒトβ型インターフェロンが腎細胞癌の細胞内で働き始めますと、遺伝子が働いた細胞の多くは死滅することがわかっています。さらに遺伝子が働くことによって

作られたヒトβ型インターフェロン蛋白は細胞の外に分泌され、まわりの腫瘍細胞の増殖を抑えたり、免疫力を高めたりすることが期待されています(付図1)。これまでの研究により、この遺伝子治療によって、培養細胞や動物に対する基礎的実験においては、単にヒトβ型インターフェロン蛋白のみの投与に比べて優れた治療効果が得られる可能性が示されています。

## ② リポソーム

脂質の二重膜で作られた小さな容器(マイクロカプセル)をリポソームと呼びます。リポソームは昔から抗癌剤などの薬の細胞内への導入法としての研究が行われていました。しかし、実際に臨床で薬として用いられているリポソーム製剤は現時点でもありません。また、遺伝子を運ぶ能力は低かったので遺伝子治療への応用はむずかしいと考えられていました。しかしリポソームの表面にプラスの電気を帯びさせることで、その中に包埋できる遺伝子の量が6-8倍に増えその結果として導入された細胞内での遺伝子発現が25-27倍に高まることが確認され、遺伝子導入担体としての能力が高まりました(付図2)。今回の遺伝子治療では私たちが新しく開発したリポソームがベクターとして使われます。

## ③ IAB-1

上で説明しましたプラスに帯電したリポソーム製剤の中にヒトβ型インターフェロンを発現させるプラスミドを包埋したものをIAB-1と呼びます。今回の遺伝子治療では、IAB-1を病巣部に直接注入します。

## ④ 今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由

腎細胞癌の細胞が他部位にまで及んで増殖した段階(癌の転移)では先に述べてきたように現在行われている治療だけでは完全に治すことは困難です。特に既に手術や免疫療法などがおこなわれてきたにも関わらず、再発してきたケースではその傾向はいつそう強く見られます。また、合併症や副作用などのために外科療法や免疫療法などを施行できないこともあります。以上のような場合、他に有効な治療法は存在しないのが実情です。そこで今回、ヒトβ型インターフェロン遺伝子を使う治療を考えたわけです。ヒトβ型インターフェロン遺伝子を取り込んだ腎癌細胞は、病巣内に高濃度のヒトβ型インターフェロンを産生しつつ死滅していくことが、我々の行った培養細胞や動物を用いた実験で確認されています。

また、今回の遺伝子治療で使用するIAB-1の毒性については、ラットおよびカニクイザルを用いた静脈内投与および脳内投与の実験で検討しました。各実験では、投与量を変えて毒性の発現について比較しましたが、死に至るような重篤な副作用は認めませんでした。よって、概略の致死量は最大投与量以上と判定されました。副作用として、体重増加の抑制、摂餌量の減少が見られましたが、すべて軽度で一過性でした。軽度の精子形成低下を1匹のラットで認めました。血液検査では、白血球増加、血小板減少が見られましたがすべて軽度で一過性でした。また、脾臓の重量増大、リンパ節腫大を認めましたが、病理組織

検査では特に異常を指摘されませんでした。本臨床研究で想定される DNA の最大総投与量は、ラットへの連日静脈内投与の結果にもとづき算出されるヒトでの総投与安全量の 14% 以下(男性)もしくは 9%以下(女性)にすぎず、また本臨床研究で用いる 1 回あたりの最大投与量は、ラットへの連日静脈内投与の結果にもとづき算出されるヒトでの 1 回投与安全量の約 40%であります。以上より、本臨床研究における遺伝子治療製剤の投与は安全に行い得ると推測されます。

#### 4. 具体的な手順について

##### (1) 手順

まず今回の遺伝子治療のおおまかな流れ(概要)を示します。

- 1) あなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを決めるための事前検査を行います。
- 2) 転移巣(肺、肝臓など)あるいはリンパ節(表在および深部リンパ節)の腫瘍病巣内に遺伝子治療薬(ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤)を注入します。この操作を週 1 回、6 週間、合計 6 回施行します。1 度に注入する病巣の個数は 1 個から数個とし、DNA の 1 回総量を 250  $\mu$ g までとします。
- 3) 本臨床研究の目標症例数は 5 例です。また実施期間(病院長の最終的な実施の認可を得てから、5 人目の臨床研究に関する登録が終了するまでの期間)は 2 年を予定しています。

以上が概要です。以下にこの遺伝子治療を行うために必要な手順を詳しく説明します。

##### ① 事前検査

これはあなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを決めるため、必要な検査です。

##### 1) 血液検査

貧血・出血傾向の有無、肝臓・腎臓・心臓などの各臓器の働き、栄養状態を調べます。

##### 2) 尿検査(早朝尿)

腎臓の働きや感染症の有無を調べます。

##### 3) 病巣の大きさの計測

肉眼的、あるいは超音波、X 線検査(CT、MRI など)で、全身の病巣を検出し、各病巣の大きさを計測します。

##### 4) 皮膚テスト

今回の遺伝子治療で用いられる遺伝子治療薬に対してアレルギーがないかどうかを調べます。

##### 5) 遺伝子発現の検索

治療前後の病変部におけるインターフェロンなどの遺伝子発現についても検索致します。これに関する同意書は別に定め、京都府立医科大学ならびに共同研究施設の該当する

委員会の承認を得て、実施致します。この場合もあなたに十分な説明を行い、自発的な同意を得た上で検査を実施します。なお、原則として本研究において解析される生体試料を他の目的のために用いることはありません。ただし、あなたに同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として、あなたの生体試料を符号化し、人名を特定できないようにした上で研究終了後も保管させていただきます。なお将来、その試料を研究に用いる場合は、改めてその研究計画書を倫理委員会等に提出し、承認を受けた上で利用させていただきます。

以上の事前検査から、以下の基準を満たす人が今回の遺伝子治療の対象となります。

- 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おり、転移を有する(手術施行時に転移を認めたか、もしくは術後に転移を認めた場合)。
- 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。
- 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。
- 転移病巣に対して、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 などの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含む保険適応のある従来の治療法を施行したにもかかわらず、無効であった、あるいはこれらの治療の適応がないと判定された。ただし、前治療が行われていれば、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場合。
- 仮に無治療の状態でも 6 ヶ月以上は生存できると主治医が判断した場合。
- 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。
- 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たす。
  - 白血球数 > 3000/μl
  - 血小板数 > 100,000/μl
  - ヘモグロビン > 8.5 g/dl
  - 出血・凝固時間: 正常値範囲内
  - 血清ビリルビン < 2.5 mg/dl
  - sGOT・sGPT < 50 U/l
  - 血清クレアチニン < 1.5 mg/dl
- 40 歳以上 75 歳未満。
- 無症状であるか、あるいは症状があったとしても歩行、軽作業が可能。
- 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場合。
- Sarcomatoid RCC、collecting duct carcinoma などの特殊なタイプの腎細胞癌でない。
- 脳などの中枢神経系の転移を有さない。
- 狭心症、心不全がない。または、心筋梗塞の既往があっても、梗塞後 1 年以上経過しており、循環器の専門医が本治療を可能と判断した場合。
- コントロール不可能な糖尿病や高血圧がない。
- 活動性のウイルス性肝炎がない。
- HIV 抗体(いわゆる AIDS(エイズ)検査)が陰性。
- 精神科で加療を要する精神病、または精神症状を有しておらず、精神科への受診の既往があっても、精神科専門医から臨床研究への参加が可能と判断された場合。

- ・ 妊娠中、あるいは妊娠の可能性のない女性、授乳中でない女性。
- ・ 活動性の重複癌を有さない。
- ・ 活動性の感染症がない。
- ・ 前処置を含む本臨床研究に用いる薬剤に対して、過敏症の既往を持たない。
- ・ その他、担当医の判断で適当と見なされた場合。

これらの条件および事前検査の結果などから、あなたの同意があっても最終的に本臨床研究に登録できない場合があることをご了承ください。

## ② 遺伝子治療の内容

転移巣(肺、肝臓など)あるいはリンパ節(表在および深部リンパ節)の腫瘍病巣内に超音波またはCTガイド下に専用の穿刺針を刺入して、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微量注入ポンプを用いて直接注入します。なお、過去の腎腫瘍生検のデータなどから考えて、穿刺針を刺すことにより腫瘍が広がる(播種)などの副作用の可能性は低いと考えています。リン酸緩衝液1ml中に30μgDNAを含有する製剤を注入します。腫瘍あたりの製剤注入量は、腫瘍体積と同容積とし、1回当たりの注入DNA総量の上限を250μg(8.3ml)とします。つまり、治療対象とする腫瘍の総体積の上限を8.3mlとします。注入は週1回、合計6回を1コースの予定で行います。1回の治療時間は1～3時間程度を予定しています。治療の際には遺伝子治療製剤の注入前に、穿刺予定部の皮膚より局所麻酔剤を作用させ、疼痛の軽減を図ります。病巣が多発している場合には、2個以上の病巣に合計250μgDNA(8.3ml)までの同製剤を注入する予定です。ただし、第1例目の方の、第1回目の遺伝子治療に限り、その安全性をより慎重に評価するため、最大の使用DNA量を30μgとします。なお、第1回目の治療後に安全性が確認されれば、第1例目の2回目以降の治療では、1回当たりのDNA注入総量を250μgまでとし、安全性を確認しながら、慎重に投与量を増やしていきます。このため、第1例目の方の第1回目の治療効果が2回目以降よりも低くなる可能性はあります。

腫瘍の大きさの変化は、製剤の注入毎にCTスキャンあるいは超音波にて評価していきます。また、1回目および6回目の遺伝子治療製剤注入の際には、それに先立って遺伝子治療製剤注入予定部位から、専用の組織生検用穿刺針を用いて腎細胞癌の組織を採取します。採取した組織を用いて治療効果判定および研究の目的で、以下の遺伝子や分子について科学的に解析する予定です。

1. HE染色(病理組織学的検査用)
2. 免疫染色(CD3, 4, 8, macrophage, NK, apoptosis など)
3. 遺伝子発現(RT-PCR:IFN-β, TNF-α, IFN-γ, IL-1β, IL-2, IL-4, IL-6)

さらに、1コース目の遺伝子注入がすべて終了しても、遺伝子治療開始後8週間は、可能な限り毎週、血液検査とレントゲン検査などにより、全身状態・腫瘍の大きさなどを調べていきます。

ここまでの治療スケジュールを付図3に示します。

最終的には治療開始から7週後と11週後に、主治医がこの治療法の安全性と有効性を総合的に検討します。さらに投与開始から13週後に、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にて安全性と有効性が評価されます。11週目のCTやレントゲン検査などで、遺伝子治療製剤を注入した病巣の一つ以上で腫瘍の縮小効果もしくは腫瘍の増大を抑制する効果が認められ、継続が困難となるような副作用をふくむ有害事象を認めなければ、患者さんが追加治療を希望された場合にのみ、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します。ただし、その追加コースごとに同意書をいただくこととなります。

なお、本遺伝子治療を実施中に中枢神経系(脳)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いたします。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しますが、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します。いずれの場合も、患者さんに病状を説明し了承をいただいてから治療を開始いたします。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、患者さんに病状を説明した上で他の治療へ変更いたします。

ご本人またはご家族の同意をいただいた上で、不幸にして死亡された場合には、直接の死因を明らかにするために、ご遺体の病理解剖を原則として実施させていただきたく存じます。以上をご了承頂きますようお願いいたします。

### ③ 現時点で想定できる不測の事態

- 1) 直接針を刺すことにより腫瘍内あるいは周囲臓器から出血を来すことがあります。出血の程度によっては、輸血や手術による止血が必要となることも想定されますが、これまでの腎腫瘍生検のデータよりその可能性は極めて低いです。
- 2) 針を刺した部位の感染症の可能性がありますが。また腫瘍を直接、針で刺すために、それに沿って腫瘍が広がる可能性があります。過去の腎腫瘍生検のデータなどから考えて、その可能性は極めて低いです。
- 3) 注射された物質に対するアレルギー反応として、ショック状態、発熱、悪寒、発汗、めまい、息切れ、胃腸の痛み、はきけ、嘔吐、下痢などの可能性があります。
- 4) 病巣内へのヒト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の注入により転移が促進されるのではないかと、という懸念を持たれるかもしれませんが、インターフェロンβは腎細胞癌の転移を抑制する作用を有することが知られており、転移促進の危険性は低いものと考えます。
- 5) 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として、ショック状態、発熱、悪寒、発汗、めまい、息切れ、胃腸の痛み、はきけ、嘔吐、下痢などの可能性があります。
- 6) 同様の方法でプラスミドを投与した遺伝子治療の報告では、肺転移への投与で気胸が、



肝臓への投与で一過性の低血圧が報告されています。本遺伝子治療でも、これらが生じる可能性はあります。気胸の程度によっては、胸腔のドレナージが必要になります。

## (2) 遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について

あなたがこの遺伝子治療を選択した場合には、遺伝子治療を開始する日からさかのぼって4週間以内および遺伝子治療中、さらに遺伝子治療薬の最終回投与後に続く5週間は、あなたから特別な要望がなく、あなたの容態が急変しない限り、腎癌に対する他の治療は何も行わないこととなります。

もちろん、腎癌以外の病気(例えば肺炎・胃潰瘍など)に対しては最善と考えられる治療を実施します。また、遺伝子治療によると考えられる症状(発熱・疼痛など)に対しても、最善と考えられる治療を行います。

## (3) 遺伝子治療実施後の中止の方法について

以下に示す事態が生じたときには遺伝子治療を中止します。

- ① 遺伝子治療に着手した後も、あなたから「中止してほしい」という希望が出されれば、その意向を尊重し、以後の遺伝子治療を中止します。
- ② 遺伝子治療開始後に重篤な副作用が出現した場合、あなたにその旨をお伝えし、遺伝子治療を中止します。
- ③ 遺伝子治療中にあなたの体に腎細胞癌以外の問題がみつきり、かつその問題が重大と判断された場合には遺伝子治療を中止します。
- ④ 遺伝子治療の総括責任者が遺伝子治療の継続が難しいと判断した場合は、遺伝子治療を中止します。

## 5. 効果判定と追跡調査について

治療効果については以下に示す項目をもって評価します。

- ① 腫瘍の縮小効果
- ② 遺伝子治療薬が最初に投与されてから腫瘍の増大が確認されるまでの期間
- ③ 遺伝子治療薬が最初に投与されてからの寿命
- ④ 機能的改善度(自覚症状や歩行、食事などの生活上の問題)

上に述べられた項目を基にこの研究の治療効果を評価するためにあなたには治療開始後少なくとも1年間は追跡調査にご協力いただくこととなります。この期間中は原則4週間ごとに検査および病状の評価を行います。ですから、本遺伝子治療終了後であっても、あなたが他の医療施設にかかったり、他の治療を受けたりした場合、またそこでもらった薬や薬局で買った薬などがあった場合には、本臨床研究の主治医にその事を連絡していただくかなくてはなりません。

また、再発時には本人と現在の病状、本臨床研究の経緯及びその効果について十分に話し

合いを行った後、可能な治療があればそれを実施します。

なお、1年間の追跡調査が終了し本臨床研究が終了した後も、一般の腎細胞癌患者さんの経過観察と同様に、外来通院にて血液検査やレントゲン検査を行い少なくとも2年間の追跡調査を実施いたします。これは、あなたにとって不利益となる副作用が生じないかを経過観察し、生じた場合は速やかに対応するためです。また、病状の変化を把握し、病状に応じた治療および検査を行なうためです。

## 6. あなたの保護について

あなたの生命と身体の安全を保護するために、遺伝子治療を担当する医師以外の委員で構成される審査委員会が治療開始13週後に本遺伝子治療の安全性(重篤な副作用がないか)と有効性(腫瘍の縮小効果もしくは腫瘍の増大を抑制する効果)を評価します。あなたの診療に関する記録は、当院で保管し、秘密を厳守します。またこの遺伝子治療の結果を医学雑誌や学会で報告する場合にも、あなたのプライバシーは守られます。

## 7. 費用について

遺伝子治療実施の目的で入院中の、医療費については健康保健等の公的医療保険は適用されませんが、この遺伝子治療臨床研究実施に係る医療費については、京都府立医科大学附属病院が負担するため、あなたが負担する費用はありません。ただし、交通費や宿泊費、研究参加に係る謝礼金などの給付はありません。また、この遺伝子治療臨床研究の実施期間中であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費については、今まで通り公的医療保険が適用され、その費用の一部を負担していただきます。

## 8. 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について

本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合には、担当の医師、または、看護師へすぐにお知らせ下さい。専門の医師が直ちに適切な処置を行います。なお、本遺伝子治療臨床研究との関連が否定できない副作用の場合、この副作用に対する治療費について京都府立医科大学附属病院が負担いたしますので、患者さんの医療費負担はありません。ただし、患者さんの副作用と本遺伝子治療臨床研究との因果関係に関する判定は、私達とは利害関係が無く、当院において本遺伝子治療臨床研究のために設置している「安全・効果評価・適応判定部会」で検討して行います。また、医療費以外の実費(通院のための交通費、宿泊費など)や、療養による休業中の補償金、その他補償金については受けられません。

## 9. セカンドオピニオンについて

我々はあなたの本研究に関する疑問点には、可能な限りお答えする準備をしています。しかし、それでも不明な点がある場合や、他の人の意見も別に聞きたい場合などには“セカンドオピニオン(その領域について十分な知識のある第三者の意見)”を求めていただいても構いません。ま

た、そのことにより、あなたがいかなる不利益も被ることはありません。

## 10. 個人情報の保護について

### (1) あなたの個人情報の取り扱いにおける京都府立医科大学附属病院の責務

京都府立医科大学附属病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律(刑法)で定められた「医師の守秘義務」に則り、京都府立医科大学附属病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、京都府立医科大学附属病院で働いているものも守秘義務をまもる事が定められています。さらに、京都府立医科大学附属病院では個人情報を保護することを徹底するために京都府個人情報保護条例に基づいて、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護に努めております。

### (2) 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 100 年を越える歴史を持ち、地域における中核病院として、高度の医療、質の高い医療を提供することに努めて参りました。このような活動を通じて、さらには医学教育機関としてこれまで以上に優れた医療人を育成するという、社会的な責務を担っております。

つきましては、京都府立医科大学附属病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録を医療機関として、また教育機関として利用させて頂きたいと思っております。あなたの個人情報は、各種法令や各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で以下の目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力をいただけますようお願い申し上げます。

#### ① 京都府立医科大学附属病院での利用

- ・ あなたがお受けになる医療サービス
- ・ 医療保険事務
- ・ あなたに関する管理運営業務  
(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(本遺伝子治療臨床研究を含め、研究活動を実施する際に、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、それを遵守して誠実に遂行致します)

#### 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
- ・ あなた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
- ・ あなた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

#### (3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

(2) に掲げました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、本遺伝子治療臨床研究の実施にあたっては、さらに本臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも使用されます。これは原則的に、本臨床研究の実施に関する緊急事態の発生に際する、ご連絡やお手続き、検査のご連絡、あなたの生命を守るために必要な場合です。

あなたの個人情報に接することが可能なのは、本臨床研究実施関係者に加え、第三者となるこの病院の審査委員会、監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者のみです。これら第三者におけるあなたの個人情報の取り扱いならびにその監督については、後述します。

これらの目的と異なる目的のために、あなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたおよび、あなたの家族(あるいは親族)にご説明し、了解を得てから使用いたします。本臨床研究は、京都府立医科大学附属病院内で実施するため、あなたを特定する情報を上記以外の第三者へ提供することは原則的にありません。

第三者へ情報を提供する必要がある場合は、その目的が適切であることを確認し、あなたおよび、あなたの家族(あるいは親族)にご説明の上、ご了承を頂いた場合に限り提供させていただきます。

#### (4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、京都府立医科大学附属病院の個人情報管理と監督

前述のように、本臨床研究においては、主にこの病院の医師などからなる審査委員会・監査

委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者が、あなたの診療記録を閲覧することがありますが、このような人々には守秘義務が課せられており、あなたの個人情報は全て秘密とされます。

一方、この病院の審査委員会や監査委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの病状や診療に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために京都府立医科大学附属病院以外の外部の委員が参加しています。このような方々は第三者に相当しますので、このような場合については京都府立医科大学附属病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。従ってあなたの個人情報は全て秘密とされます。

(5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置

上記のような個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、試験成績などを公表・公開する場合は、あなたであることを特定できない形で、すなわち個人情報を完全に保護した状態で取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めておりますため、病状経過などについては、個人を特定できない状態での公開(学術雑誌、学会、マスコミを含む)を原則として行います。その際は、あなたの個人情報を厳守して実施することをお約束しますのでご了承ください。

(6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利

本臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合には、担当医師にお問い合わせください。そのお申し出に応じて、手続きに関する詳細をご説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

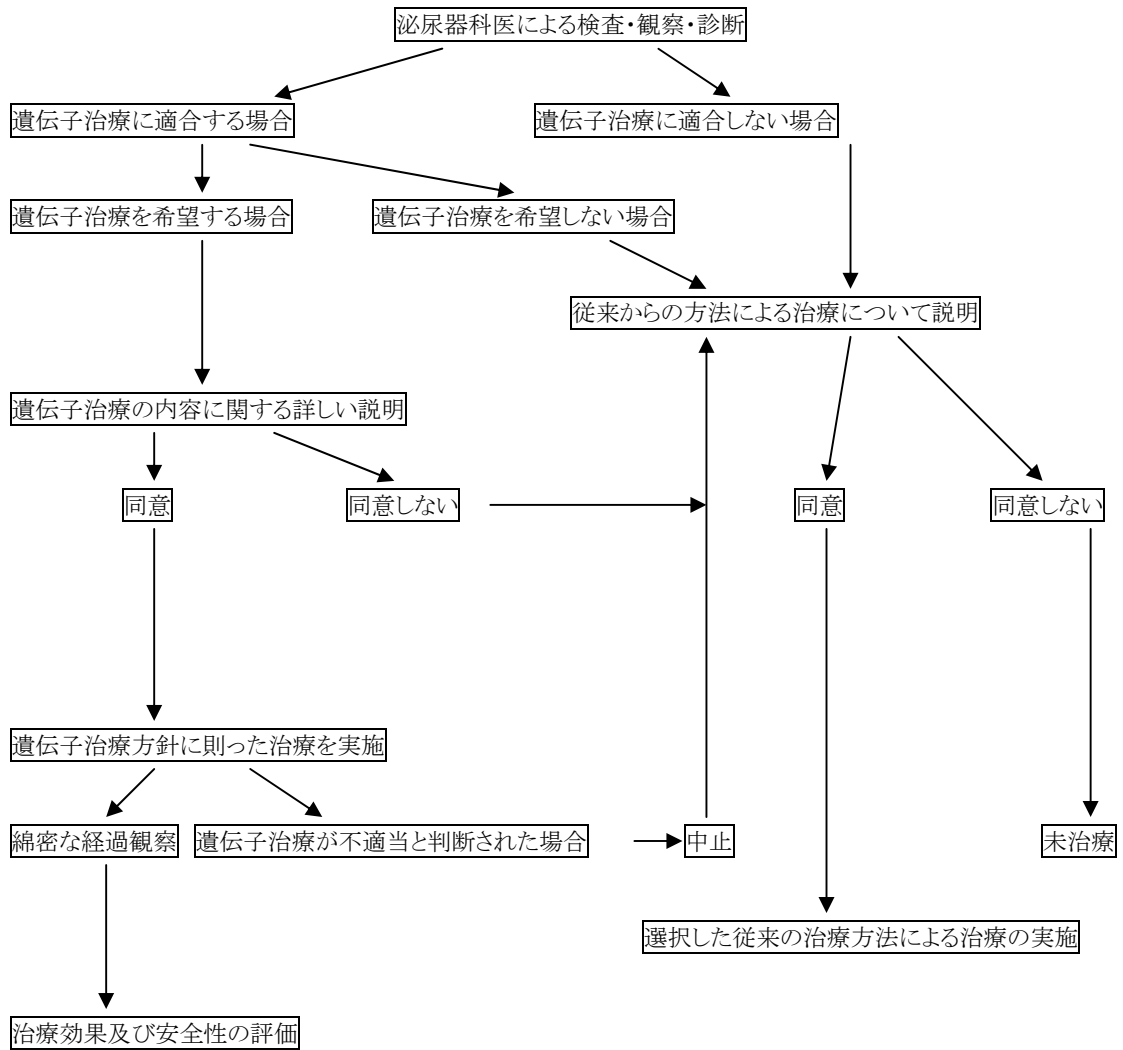
【個人情報に関する苦情等の窓口】

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

以上説明させていただきました一連の臨床研究の流れを一覧表にしますと、付表1のようになります。

付表1. 治療計画の流れ



## 11. 問い合わせ先

総括責任者および共同研究者らは、この臨床研究についてあなたに詳しくそして分かりやすく説明できるようにこの説明文を作成し、またあらゆる質問に答えられるよう準備をしております。もしあなたがこの臨床研究に関連して、なにか質問したい場合には、通常の勤務時間内であれば三木恒治、若しくは主治医に連絡して下さい。でき得る限りすみやかに対応できるよう準備致します。外泊時・帰宅時など、今回の臨床研究現場(病院)から離れた場所で発生した医療上の緊急事態には、連絡が取れる方であればどなたでも構いませんので、下記の連絡先を通じて、担当医への連絡を依頼して下さい。

連絡先: 京都府立医科大学附属病院泌尿器科

電話: 075-251-5595 (京都府立医科大学附属病院泌尿器科医局)

075-251-5646 (京都府立医科大学附属病院救急医療部)

FAX: 075-251-5598 (京都府立医科大学附属病院泌尿器科医局)

## 12. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

この研究は進行期腎細胞癌に対するヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる臨床研究の安全性及び医学的効果(治療効果)を評価するために、生命維持が施行直前に困難な状態ではない患者さんを対象として計画され、以下に示す研究者の総意によって実施されるものです。なお、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致します。

臨床研究の正式名称: ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究

実施施設: 京都府立医科大学附属病院

実施施設長: 京都府立医科大学附属病院病院長

岩井直躬

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

共同研究者: 京都府立医科大学医学部医学科・腫瘍薬剤制御学・准教授

高羽夏樹

共同研究者: 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

河内明宏

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・講師  
冲原宏治

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・助教  
三神一哉

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・助教  
中村晃和

共同研究者: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  
山上卓士

共同研究者:名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授  
若林俊彦

共同研究者:独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院・院長  
吉田 純

共同研究者: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  
水野正明



### 13. 書類その他

この説明書と同意書の原本は京都府立医科大学附属病院で保存します。今後の参考と個人的な記録としてこの書類の写しをあなたにお渡ししますので大切に保存して下さい。

私は患者 殿(代諾者 殿)に対して、この遺伝子治療臨床研究の目的、必要性、危険性、合併症などについて説明いたしました。

年 月 日

京都府立医科大学附属病院

役職

説明者医師 (印)

## 「ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる 進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」に関する同意書

京都府立医科大学附属病院長 殿

私は、「ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。また、私は、この遺伝子治療臨床研究について主治医と話し合い、私が抱く疑問について主治医及び研究者に尋ねる機会を持つことができました。私は、私の自由意思により、この遺伝子治療臨床研究に参加することに同意します。また、この遺伝子治療を行う上で必要な処置を受けること、及びこの治療中に予測し得ない状況が発生した場合にそれに対処するための緊急処置を受けることにも併せて同意します。この臨床研究への参加に一旦同意した後でも、いかなる不利益を被ることなく、この臨床研究への参加を随時拒否することができることについても説明を受け理解しています。

- あなたの病気(腎細胞癌)について
- あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について
- 遺伝子治療について
- 具体的な手順について
- 病巣部を治療効果判定および研究の目的で生検することについて
- 病理解剖について
- 効果判定と追跡調査について
- あなたの保護について
- 費用について
- 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について
- セカンドオピニオンについて
- 個人情報の保護について
- 問合せ先・緊急連絡先
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制
- その他

年 月 日

患者

住所:

氏名:

署名

(印)

患者親族または理解補助者

住所:

氏名:

(続柄: )

署名

(印)

説明医師(担当医)

所属:

氏名:

署名

(印)

立会人

連絡先または所属 :

患者との関係:

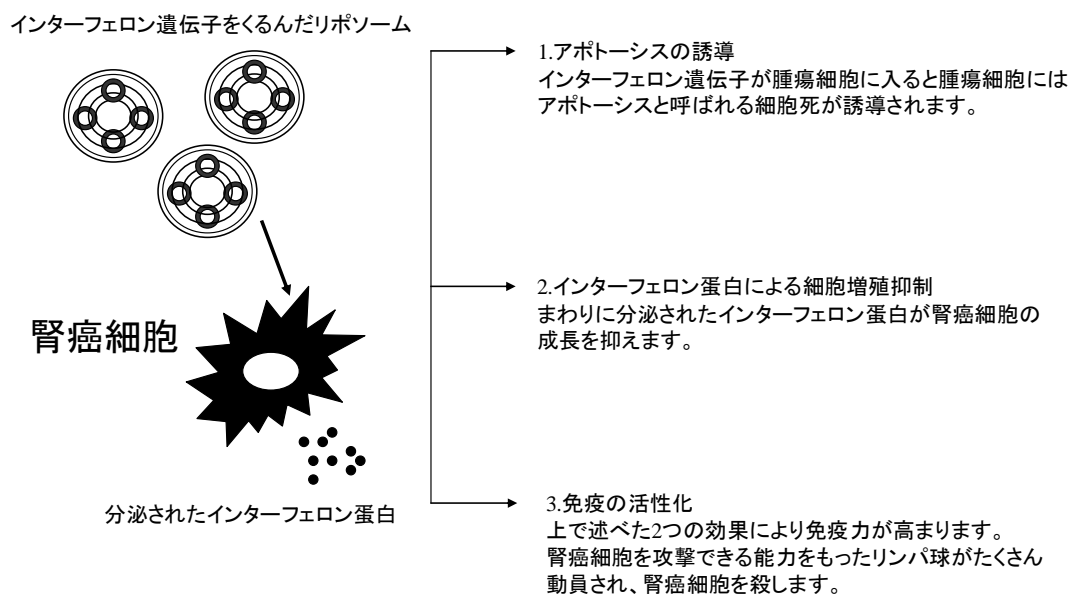
氏名:

署名

(印)

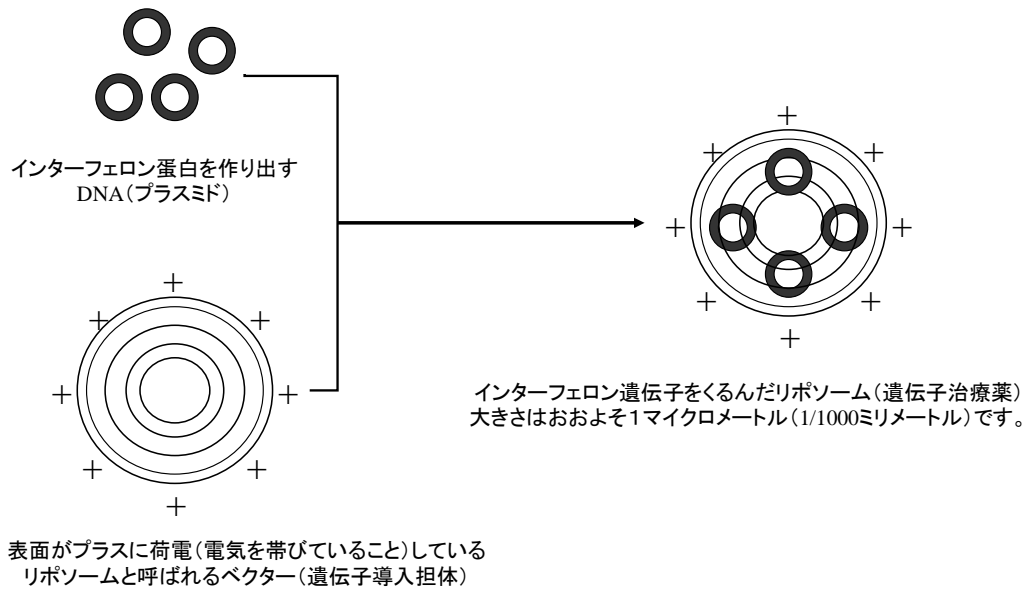
## 付図1:リポソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による腎細胞癌への抗腫瘍効果

リポソームにくるまれたヒトβ型インターフェロン遺伝子による遺伝子治療は以下の図に示すメカニズムで腎細胞癌を殺します。



注:これらの抗腫瘍効果は、これまでの培養細胞あるいは実験動物での検討によって確認されたものです。人間の治療においても同様の効果が期待できると考えておりますが、人間において上記のような効果が実証されているわけではありません。

付図2: 遺伝子導入に用いられるリポソーム製剤の模式図



付図3.

治療スケジュールを以下に示します。

リボソーム製剤の投与	1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目		
	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	Day36 治療後
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 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					
腫瘍径の測定	○	○	○	○	○
血液検査	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○
安全性の評価	○	○	○	○	○
腫瘍生検（病理検査、 免疫染色、遺伝子発現）					
プラスミドDNAのPCR （血液、尿）	○				○
血中抗プラスミド抗体	○				○
血中サイトカイン	○				○
血中CD4/8	○				○

(上記のように1コースを11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	○

(研究対象者) 様

### 1 課題名

ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究における遺伝子解析に関する研究

### 2 実施責任者及び実施担当者の職・氏名

(実施責任者) 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  
 (実施担当者) 京都府立医科大学医学部医学科 腫瘍薬剤制御学 准教授 高羽夏樹  
 (実施担当者) 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 河内明宏  
 (実施担当者) 京都府立医科大学大学院医学研究科 泌尿器外科学 講師 沖原宏治  
 (実施担当者) 京都府立医科大学大学院医学研究科 泌尿器外科学 助教 三神一哉  
 (実施担当者) 京都府立医科大学大学院医学研究科 泌尿器外科学 助教 中村晃和  
 (実施担当者) 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 山上卓士  
 (共同実施機関) 名古屋大学大学院医学系研究科 脳神経外科学分野 教授 若林俊彦  
 (共同実施機関) 独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院 院長 吉田 純  
 (共同実施機関) 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 水野正明

### 3 実施計画の意義、目的及び方法について

**研究の意義:** ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療によって治療病巣における遺伝子発現がどのように変化するかを明らかにすることにより、本遺伝子治療の分子生物学的作用機序が明らかになる可能性が考えられます。また、個々の患者さんの治療病巣における遺伝子発現の変化と治療効果の関連を解析することにより、本遺伝子治療の改良およびより有効な治療の開発につながる可能性が考えられます。一方、本遺伝子治療により病巣へ注入されたプラスミド DNA が血液中、尿中にどの程度存在するかを調べることにより、本遺伝子治療の安全性をより詳細に評価することができ、より安全な治療方法の開発につながる可能性があります。

**研究の目的:** 個々の患者さんの治療病巣における遺伝子発現の変化と治療効果の関連を解析し、さらに血液中および尿中のプラスミド DNA を測定することにより、本遺伝子治療の効果予測因子の同定、ならびに本遺伝子治療の効果および安全性の向上を目的とした研究です。

**研究の方法:** 本遺伝子治療製剤の 1 回目および 6 回目 (1 コースの最終回) の投与時に治療する病巣より、組織生検用の穿刺針を用いて採取した組織におけるいろいろな遺伝子の発現の変化について調べます。遺伝子については、本遺伝子治療により導入されるヒト  $\beta$  型インターフェロンのほか、炎症反応、免疫反応、細胞死の誘導などに関わる遺伝子について調べます。また、本遺伝子治療開始前および後の血液中、尿中にどの程度、病巣部に注入されたプラスミド DNA が存在するかを調べます。本研究では、本遺伝子治療の効果および病気の状態と各遺伝子の発現の変化が関係しているかを検討することも重要です。研究のためにカルテの情報や、アンケート内容も匿名化 (個人情報容易にわからない状態) を施した後、利用させていただきます。

#### 4 実施計画の概要について

1回目および6回目(1コースの最終回)の本遺伝子治療製剤注入の際に、それに先立って製剤注入予定部位から、専用の組織生検用穿刺針を用いて腎細胞癌の組織を採取します。採取した組織を用いて治療効果判定および研究の目的で、いろいろな遺伝子の発現を解析する予定です。遺伝子発現の解析は、採取した組織より抽出したRNAを用いて行います。また、血液および尿よりDNAを抽出した後に血中および尿中のプラスミドDNAについて調べます。

#### 5 研究対象者等からインフォームド・コンセントを受けるに当たっての説明事項

##### (1) 実施計画への参加は任意です。

この計画への協力の同意はあなたの自由意思で決定してください。決して強制いたしません。自由なお気持ちでご判断ください。

##### (2) 実施計画への参加に同意しないことにより不利益な対応は受けません。

この計画への協力の同意をしなくても、あなたは何ら不利益を被ることはありません。

##### (3) 同意した場合でも、いつでも文書により不利益を受けることなく撤回することができます。

一旦同意した場合でも、いつでも同意を文書により撤回することができます。その場合、あなたが不利益を受けることは一切ありません。しかし、本研究の結果が学会や医学雑誌などに発表された後の撤回は不可能となりますのでご承知おきください。

##### (4) 同意が撤回された場合、試料等及び研究結果は廃棄されます(連結不可能匿名化されている場合等を除く)

同意を撤回された場合は採取した組織や遺伝子を調べた研究結果などはすべて廃棄され、診療記録などもそれ以降は研究目的に用いられることはありません。ただし、同意を取り消した時点ですでに研究結果が論文などで公表されていた場合などのように研究結果を廃棄することができない場合があります。

##### (5) 研究対象者等に選ばれた理由

本研究は、「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を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」に同意の上、参加される患者さん5人を対象に行う予定です。あなたの病気の状況は、医師の診断により、この遺伝子治療臨床研究の参加基準に合致していましたので研究への協力を依頼することになりました。

##### (6) 実施期間

承認日 ～ 年 月 日

##### (7) 予測される研究結果及び研究対象者等に対して予測される危険や不利益(社会的な差別等社会生活上の不利益も含む。)及びその対応

本研究の結果が、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を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療の改良・向上に貢献する可能性があります。この研究に参加することにより、社会的な不利益や危険性を受けることは常識的には考えられません。この研究のために病巣部の生検を行いますが、遺伝子治療製剤の注入と同様に穿刺用針を用いて行いますので、遺伝子治療製剤の注入と同様の危険性は伴います。つまり、出血と感染の危険性がありま



すが、生検は本遺伝子治療製剤の1回目および6回目（1コースの最終回）の投与時に注入の直前に行うため、注入に伴う危険性を有意に高めるものではないと考えられます。なお、この研究のために行う生検に伴い、副作用が生じた場合は、専門の医師が直ちに適切な処置を行いますので、直ちに担当の医師、または、看護師へお知らせ下さい。この副作用に対する治療費については、京都府立医科大学附属病院が負担しますので、患者さんの医療費負担はありません。ただし、患者さんの副作用との因果関係に関する判定は、私達とは利害関係が無く、当院において本遺伝子治療臨床研究のために設置している「安全・効果評価・適応判定部会」で検討して行います。また、医療費以外の実費（通院のための交通費、宿泊費など）や、療養中の休業中の補償金、その他補償金については受けられません。

**(8) 研究対象者及び代諾者等の希望により、他の提供者等の個人情報の保護や研究の独創性の確保に支障が生じない範囲内で実施計画及び実施方法についての資料を入手又は閲覧することができます。**

ご希望があれば、この研究の詳しい研究計画書の内容を見ていただくことができます。他の患者さんの個人情報の保護や本研究を行う上で支障がない場合には、ご希望をかなえることができます。

**(9) 個人情報の保護方法**

各患者さんの個人情報は、試料の提供が行われる病院の個人情報管理者と呼ばれる研究者が同機関にて厳重に保管・管理します。本研究では、個人情報管理者は試料等提供者に対して独自の研究用ID（記号や番号）をつけて、病院での患者ID、患者氏名、住所、電話番号、生年月日などの個人を特定しうる情報を削除する連結可能匿名化という作業を行います。共同研究機関には研究用IDをつけて組織またはRNA、DNAが送られますので、個人情報の伝達は行われなくなります。また個人情報は個人情報管理者が試料等の提供が行われる病院内の外部記憶装置（専用ノートパソコンのハードディスクや外付けハードディスク）に記録し、鍵をかけて責任を持って厳重に保管・管理し外部へ持ち出さないものとし、コンピューターで情報を管理する場合はネットワークより隔絶いたします。これにより、第三者が個人情報を得ることはない状態になると考えられます。

**(10) 計画の一部を委託する場合の匿名化の方法等**

組織からのRNAの抽出および遺伝子発現の解析、または血液、尿からのDNA抽出およびプラスミドDNAの検出検査を共同研究機関に委託することがあります。その場合は、組織、RNA、DNAを匿名化した上で個人の情報がわからないようにして委託します。

**(11) 特許権等の知的財産権を生み出した場合の帰属先について**

この実施計画の結果として特許権などが生じる可能性があります。その権利やそれに基づく経済的利益は国、研究機関を含む共同実施機関及び実施担当者などに属します。

**(12) 成果の公表について**

あなたの協力によって得られたこの研究の成果は、提供者本人やその家族の氏名など個人を特定できる情報は一切明らかにされないようにした上で、学会発表や学術雑誌およびデータベース上で公に発表されることがあります。

**(13) 試料等の保存及び使用方法について**

組織サンプル、血液サンプル、尿サンプルとも分析されるまでは、京都府立医科大学泌尿器科研究室において-80℃にて凍結保存されます。組織サンプルより RNA を、血液サンプルおよび尿サンプルよりプラスミド DNA を分離した後に分析いたします。

**(14) 研究終了後の試料等の保存、使用又は廃棄の方法について（他の研究への利用の可能性と予測される研究内容を含む）**

あなたの血液などの試料は、原則として本研究のために用いさせていただきます。しかしながら、もし、あなたが同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として研究終了後も保管させていただきたいと思っております。この場合も(9)で説明した方法により分析を行う研究者にはどこの誰の試料かが分からないようにした上で、試料が使い切られるまで保管します。

なお、将来、試料を研究に用いる場合は、改めてその計画書を「京都府立医科大学医学倫理審査委員会」において承認を受けた上で利用します。

**(15) 費用負担に関する事項**

ここで行われる遺伝子治療臨床研究における遺伝子解析に関する研究については、必要な費用は、京都府立医科大学泌尿器科の研究費から支払われますので、あなたが負担することはありません。また、交通費などの支給は行いません。

**(16) 試料等の提供は無償です**

試料の提供に対しては報酬をお支払いいたしませんのでご了承願います。

**(17) 問い合わせ、苦情等の窓口の連絡先等について**

この実施計画についてのお問い合わせ先は京都府立医科大学泌尿器科・腫瘍薬剤制御学において受け付けております。

電話番号：075-251-5595（京都府立医科大学泌尿器科医局）

担当者名：高羽 夏樹（京都府立医科大学腫瘍薬剤制御学・准教授）

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）

**6 説明者の氏名、所属及び捺印並びに説明を行った日時、場所**

氏名				印
所属				
日時	年	月	日	
場所				

同 意 書

実施責任者

所属・職 京都府立医科大学大学院医学系研究科・泌尿器外科学 教授  
氏 名 三木 恒治 様

私は（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における遺伝子解析に関する研究の実施について（説明者） 年 月 日、（日時） 年 月 日、（場所）

において説明文書を用いて説明を受け、実施計画の意義、目的、方法、個人情報の保護方法などについて十分理解しました。

1 説明を受け理解した項目（□の中にご自分でレを付けてください）

- |  |  |
|--|--|
| <input type="checkbox"/> 遺伝子の分析を行うこと           | <input type="checkbox"/> 実施計画・実施方法の資料入手及び閲覧について    |
| <input type="checkbox"/> 研究責任者の氏名及び職名について      | <input type="checkbox"/> 個人情報の保護方法                 |
| <input type="checkbox"/> 計画の意義、目的              | <input type="checkbox"/> 計画の一部を委託する場合の匿名化の方法       |
| <input type="checkbox"/> 研究方法                  | <input type="checkbox"/> 研究から生じる特許権等の知的財産権の帰属先について |
| <input type="checkbox"/> 研究計画参加の任意性と撤回の自由について  | <input type="checkbox"/> 研究成果の公表について               |
| <input type="checkbox"/> 同意撤回時の試料及び研究結果の廃棄について | <input type="checkbox"/> 試料等の保存及び使用方法について          |
| <input type="checkbox"/> 研究対象者に選ばれた理由          | <input type="checkbox"/> 研究終了後の試料等の保存、使用、廃棄について    |
| <input type="checkbox"/> 実施期間                  | <input type="checkbox"/> 費用負担について                  |
| <input type="checkbox"/> 予測される研究結果             | <input type="checkbox"/> 試料等提供の対価はないこと             |
| <input type="checkbox"/> 研究対象者に対して予測される危険・不利益  | <input type="checkbox"/> 問合せ、苦情等の窓口（連絡先）について       |

2 研究協力への同意（□の中にご自分でレを付けてください）

私は、以上の説明を十分理解した上で、私の試料等を提供すること、及び提供する試料等が本研究に使用されることに同意します。

3 研究試料の保存への同意（□の中にご自分でレを付けてください）

私は、以上の説明を十分理解した上で、私の試料が将来の研究のために本研究終了後も保管されることに同意します。

年 月 日

試料等の提供者  
氏 名  
生年月日  
住 所  
電話番号

印

資料 11

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追加継続のための説明と同意書

説明日： 年 月 日

患者氏名：

説明医師名：

## 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

### 【はじめに】

あなたの病気は腎癌です。残念なことに、腎癌に有効とされる標準的治療法が行われたにも関わらず、①再発・②腫瘍の増大傾向・③従来有効とされてきた治療がこれ以上実施困難な状況を認めることから、今後の治療法の選択は大変難しい状況にあります。

我々のこれまでの研究成果などから、あなたの病状の改善が期待できる可能性のある方法として、「腎癌に対するベータ型インターフェロン遺伝子治療」について説明させていただいた上で、「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」にすでに参加いただき、遺伝子治療製剤を用いた治療を受けていただきました。そこで、本遺伝子治療の追加継続について説明させていただきたいと思います。遺伝子治療とは 遺伝子を一部取り出して加工し、これを患者さんの体内に直接もしくは間接的に投与して治療効果を得ようとする治療法です。

これまでに実施された癌に対する遺伝子治療はそれほど多くはなく、治療効果・安全性がまだ完全には確立されていません。サルなどを用いた安全性試験の結果から、今回あなたに説明する本臨床研究は比較的安全であろうと考えられますが、予測し得ない副作用が起こる可能性も否定できません。

今回説明する遺伝子治療は、少用量の同一製剤を用いたヒトの他疾患(脳腫瘍・悪性黒色腫)での臨床使用実績はありますが、今回の使用予定量は従来よりも多く、ヒトの腎細胞癌に使用されるのも今回が世界で初めてです。

また、本臨床研究は医師が実施する研究であり、文字通り研究的的一面も持っています。

あなたはすでにヒト 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遺伝子治療を受けておられますが、遺伝子治療を担当する医師以外の委員で構成される審査委員会が治療開始 13 週後に開かれ、あなたに対する本遺伝子治療の安全性(重篤な副作用がないか)と有効性(腫瘍の縮小効果もしくは腫瘍の増大を抑制する効果があるか)が確かめられました。このような場合には、十分な説明を受けていただいた後に患者さんの希望があれば、同様の治療を追加することができますので、今回はその説明をさせていただきます。

### 臨床研究について

新しい治療法、あるいは薬剤が一般的に使われるようになるまでには、その安全性と効果を確認しなければなりません。これを臨床研究あるいは臨床試験と言います。これまでに患者さんに行われた遺伝子治療は臨床研究などとして実施されています。

一般的に臨床研究は次の 3 つの段階からなっています、(1) 第 I 相試験:治療あるいは薬剤の副作用を確認し、安全であるかどうかを調べる段階。(2) 第 II 相試験:第 I 相で確認された方法で治療を行い、その投与量で効果があるかまた安全性はどうかを調べる段階。(3) 第 III 相試験:現在一般的に使用されている治療や薬剤と比較する段階。

今回あなたにご紹介する遺伝子治療も臨床研究として実施されます。さらに本臨床研究は、治療の安全性を調べることを主たる目的としており(主要エンドポイントと呼びます)、さらに治療効果を示す投与量を調べる目的も含まれています(副次エンドポイントと呼びます)。従って、本臨床研究は第Ⅰ相+第Ⅱ相試験に相当します。

これから私達が、京都府立医科大学附属病院で行われる遺伝子治療の臨床研究について文章および担当医師の口頭で説明します。以下の説明をよく読んで十分に理解していただいた上で、この臨床研究に参加されるかどうかをお考えください。

- (1) この臨床研究に参加されることは、あくまでもあなたの自由意思によるものです。したがって、一旦同意した後でも随時、この臨床研究への参加を文書にて拒否できます。
- (2) この臨床研究に参加することによって、必ずしも病気が治癒するとは限りません。しかし、ほかの人々やこれからの新しい医療に役立つ多くの知見が得られることが期待できます。
- (3) 本治療法のヒトでの安全性は確認されていません。そのため予測し得ない副作用が起こる可能性もあります。
- (4) たとえこの臨床研究を断っても、あなた自身がその後の治療で不利益をこうむることはありません。

以下の説明文では、この臨床研究の特徴、期待される効果、安全性と危険性、その他の関連した事項が、次頁の目次に従って記載されています。説明の内容を十分理解した上であなたのお考えをお示し下さい。なお、あなたが抱かれている疑問については、どんな些細なことでも結構ですので、説明を行う医師にお尋ね下さい。

日時：           年    月    日

担当医師：

## 目次

### はじめに

1. あなたの病気(腎細胞癌)について
2. あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について
  - (1) 現在行われている治療法
  - (2) 今後のあなたの治療法
3. 遺伝子治療について
  - (1) 遺伝子治療とは
    - ① 遺伝子とは
    - ② 遺伝子導入担体(ベクター)とは
    - ③ 腎細胞癌に対する遺伝子治療の種類
    - ④ ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いたグリオーマ、悪性黒色腫に対する遺伝子治療
  - (2) 今回の遺伝子治療について
    - ① ヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子
    - ② リポソーム
    - ③ IAB-1
    - ④ 今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由
4. 具体的な手順について
  - (1) 手順
    - ① 事前検査
    - ② 遺伝子治療の内容
    - ③ 現時点で想定できる不測の事態
  - (2) 遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について
  - (3) 遺伝子治療実施後の中止の方法について
5. 効果判定と追跡調査について
6. あなたの保護について
7. 費用について
8. 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について
9. セカンドオピニオンについて
10. 個人情報の保護について
11. 問い合わせ先
12. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制
13. 書類その他



## 1. あなたの病気(腎細胞癌)について

腎細胞癌とは血液を濾過して尿を作る腎臓という臓器に発生する癌で、40歳代から70歳代に多く発症します。男女比はおよそ2:1です。血尿やお腹の違和感で見つかることもあります。深い所にある臓器なのでなかなか症状が出にくく、症状が出てくる段階では他の臓器へ転移している場合も少なくありません。最近では人間ドックや癌検診などで行われている超音波検査で偶然発見される患者さんが増えてきています。

## 2. あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について

### (1) 現在行われている治療法

腎細胞癌の特徴は、他の癌で一般的に使われる抗癌剤などのお薬や放射線があまり効かないという事です。したがって手術で完全に摘出する事がたいへん重要です。しかし、発見が遅れた場合などのいわゆる進行した状態になると、多くの場合、周囲に広がっていくと同時に、リンパ節、肺、骨、肝臓などへ転移を起こしてきます。転移病巣が単発の場合、原発病巣(腎臓の腫瘍)および転移病巣を手術で完全に摘除できた場合の術後5年目の生存率は約30%と報告されており、転移病巣への手術の効果もある程度期待できます。また、転移病巣への手術は、骨転移病巣による神経圧迫などの、転移病巣が原因で生じている自覚症状の軽減を図ることは期待できます。しかしながら、転移病巣が多発している場合には、転移病巣への手術を行っても患者さんの予後が明らかに改善するという報告はありません。手術で取りきれないものや、転移してしまったものに対しては、インターフェロン、インターロイキンなどのサイトカインと呼ばれる蛋白を利用した薬物治療が行われています。これらのサイトカインを用いた薬物治療は患者さんの免疫力を高めることによって、癌を攻撃するので、免疫療法と呼ばれています。10~20%の患者さんはこの治療によって、癌が縮小するといわれていますが、残念ながら残りの8割程度の患者さんには効果がありません。また、この治療によって一時的に癌が小さくなくても、やがて大きくなっていく場合がほとんどです。なお、インターフェロン、インターロイキンなどのサイトカインが腎細胞癌の転移病巣の治療として使用されるようになる以前は、女性ホルモンの一種である黄体ホルモンが腎細胞癌に対する薬物治療として使用されていました。腎細胞癌に対するインターフェロンの効果を判定するために、インターフェロンと黄体ホルモンのそれぞれの効果を比較する臨床試験が海外で行われ、生存期間の延長については、中央値で8.5ヶ月と6.0ヶ月と、インターフェロンの方が長かったと報告されています。また、インターロイキンとインターフェロンが生存期間の延長に及ぼす効果は、ほぼ同等であると報告されています。近年、ソラフェニブ、スニチニブなどの分子標的治療薬が転移のある腎細胞癌の患者さんの治療に用いられるようになりました。これらの薬は、複数の酵素(分子)を選択的に阻害することにより、癌細胞の増殖とその栄養血管の増殖を抑える作用を持っています。これまでに海外で第Ⅲ相臨床試験が、国内で第Ⅱ相臨床試験が行われました。転移に対する治療がこれまでに行われていない腎細胞癌の患者さんを対象にスニチニブとインターフェロンαを

比較した海外の第Ⅲ相臨床試験では、インターフェロン $\alpha$ による腫瘍縮小効果が6%の患者さんに認められ、これまでに報告されているよりもやや低い効果でした。これに対して、スニチニブでは31%の患者さんに認められ、スニチニブの縮小効果の方が優れていることが示されました。しかしながら、スニチニブにより完全に腫瘍がなくなった患者さんは1%未満でした。また、腫瘍の進行・増大を抑える作用についても、スニチニブの方がインターフェロン $\alpha$ よりも優れていることも示されましたが、1年後には80~90%の患者さんで進行していました。免疫療法が無効となった転移を持つ腎細胞癌の患者さんに対して、ソラフェニブとプラセボ(偽薬)を比較した臨床試験では、プラセボの腫瘍縮小効果が2%の患者さんに認められたのに対して、ソラフェニブでは11%の患者さんに認められ、ソラフェニブの方が有効であることが示されましたが、ソラフェニブにより完全に腫瘍が消失した患者さんは1%未満でした。また、腫瘍の進行・増大を抑える作用についても、ソラフェニブの方がプラセボよりも優れていることも示されましたが、1年後には80~90%の患者さんで進行していました。国内の臨床試験でも国外とほぼ同様もしくはやや良い効果とほぼ同等もしくはやや高い頻度の副作用が報告がされました。この結果、日本国内では、2008年よりスニチニブおよびソラフェニブの保険治療が開始されています。分子標的治療薬による治療には、従来の免疫治療よりも優れた効果や免疫療法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です。これらの治療薬は内服薬であるため、患者さんの負担は少ないと思われませんが、以下のような特有の副作用が比較的高頻度に認められることも明らかになりました: 高血圧(約10~50%)、手足症候群(約20~60%)、甲状腺機能低下症(約5-15%)。これらの副作用は薬の減量または休薬で対応できることもわかってきましたが、嚴重な経過観察のもとに、投与する必要があると認識されています。

このように進行した腎細胞癌の患者さんには確実に有効な治療法が確立されていないため、新しい治療法の開発が望まれています。

## (2) 今後のあなたの治療法

健康診断での超音波検査などによる早期発見と手術療法の進歩、その後に実施されるインターフェロンなどのいわゆるサイトカインを用いた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しました。あなたに対しても、これまでの様々な過去のデータ(治療成績など)から、状況に応じ最善と考えられる治療法が行われてきました。

しかし、あなたの場合、このような治療法が行われたにも関わらず、再発または腫瘍の増大傾向が認められるか、従来有効とされてきた治療が、これ以上実施困難な状況であることから、残念ではありますが、今後の治療法の選択は大変難しい状況にあります。

今後の治療としてあなたが選択できるのは

- ① 手術(再手術の場合、腫瘍の完全な摘出は困難です。)
- ② 各種抗癌剤による化学療法
- ③ サイトカインなどを用いた免疫療法の継続
- ④ 分子標的治療薬による治療の継続
- ⑤ 国内で治験が実施されている医薬品や国内外における臨床研究段階の治療法

などがあります。しかし、上記の①②③の治療方法は、当施設での経験およびこれまでの国内外からの報告から判断して、いずれも現在のあなたの病状に対して効果を期待することは難しいと思われる。⑤については、骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)、癌ペプチドワクチンがあります。骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)は、HLA 適合ドナー(組織適合性がある程度同じ人:兄弟、姉妹のことが多い)より提供された骨髄を腎癌の患者さんに移植すると、移植された骨髄細胞の中の免疫細胞が癌細胞を非自己と認識し攻撃することを利用した治療方法です。国外の治療成績は、奏効率(病巣が50%以上縮小する率)が40-50%と良好な結果でありましたが、国内で行われた約20例の報告では、奏効率は約20%で、死亡例が1例ありました。ミニ移植では、移植された骨髄が生着し、腫瘍に対する効果が現れるまでに、数ヶ月かかります。また、移植された骨髄細胞は癌のみならず、患者さんの正常の臓器をも攻撃するため、色々な副作用が生じます。癌ペプチドワクチンは、腎癌特異的に発現されているタンパク質のごく一部(ペプチド)を合成し、患者さんの皮下に注射することにより、患者さんの腎癌に対する免疫力を高める治療法です。注射されたペプチドは患者さんのHLA分子(組織の型を決める分子)とともに、免疫細胞の一種に認識された後に、癌に対する免疫力が高められます。よって、用いるペプチドに合うHLAの型の患者さんにしか用いられません。近年、国内ではCA9と呼ばれる、腎癌特異的に発現しているタンパクのペプチドを用いた臨床試験が23名の腎癌の患者さんに対して行われました。3例(13%)で病巣の50%以上の縮小がみられ、6例(26%)では、腫瘍の増大が6ヶ月以上にわたりみられませんでした。生存期間の中央値は21ヶ月でした。

以上の2つの治療法については、まだ国内では保険治療として承認されておらず、長期の治療成績もまだ報告されていません。

そこで、我々のこれまでの研究成果などから、あなたの病状の改善が期待できる可能性のある方法である、“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用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療”について、説明させていただきたいと思います。腎細胞癌の免疫療法として通常行われるインターフェロンを用いた治療は、腫瘍に対する全身の免疫力を強めるために、インターフェロンαを皮下注射または筋肉内注射で投与します。通常、外来通院または患者さんによる自己注射で行える治療ではありますが、副作用として発熱、倦怠感などがみられます。一方、本遺伝子治療では、IAB-1(インターフェロンβの遺伝子を含むプラスミドをリポソームという脂質の膜に包んだもの)をCTや超音波を用いて観察しながら穿刺針を用いて、転移病巣部に直接注入します。穿刺に伴う合併症(出血、感染など)は低いながらもあるため、入院による治療が必要です。本遺伝子治療では、病変部でインターフェロンβの遺伝子よりインターフェロンβタンパクが産生され癌細胞に直接作用する効果と癌細胞に対する全身の免疫力を高める作用が期待できると考えられています(付図1)。腎癌の培養細胞や動物の皮下に形成した腎癌を用いた基礎実験では、インターフェロンβタンパクを直接、病変部に投与するよりも強い治療効果がえられることを確認しています。なお、以下に各治療法の長所と短所を示します。

治療法	長所	短所	保険適応
骨髄非破壊的同種末梢血幹細胞移植(ミニ移植)	奏効率の高い報告がある	副作用が多い ドナーが必要 効果発現が遅い(5-6ヶ月) 国内では治療関連死の報告あり	なし
癌ペプチドワクチン	副作用が少ない 治療方法が比較的簡単	HLA が適合しないと施行できない	なし
分子標的治療	癌の増殖を抑える効果がある 内服薬である 奏効率が高い	副作用が多い(高血圧、手足症候群、甲状腺機能低下症)	あり
手術	すべて摘除しえた場合には完治の可能性が見込める	侵襲(からだにかかる負担)が大きい	あり
化学療法	免疫療法との併用で効果が上がる場合あり	単独では、ほとんど効果がない	なし
サイトカインの継続	癌の増殖を抑制できることがある	副作用が多い	あり
本遺伝子治療	直接効果(癌の増殖抑制)と間接効果(癌に対する免疫力の活性化)の両方が期待できる 局所投与のため全身の副作用は低いと予想される	CT または超音波装置を用いて、針で穿刺を行う必要があり、それに伴う合併症の可能性がある	なし

### 3. 遺伝子治療について

#### (1) 遺伝子治療とは

遺伝子を一部取り出して加工し、これを患者さんの体内に直接もしくは間接的に投与して治療効果を得ようとする治療法です。直接的投与とは治療のための遺伝子を注射や点滴あるいは噴霧を使って患者さんの体内に投与する方法です。間接的投与とは、患者さんの体からリンパ球や癌細胞などを取り出し、これに治療のための遺伝子を入れて再び患者さんの体内にもどす方法です。今回私たちがお話しする遺伝子治療は直接的投与になります。

#### ① 遺伝子とは

遺伝子とは私たちの体を作っているタンパク質の設計図です。その本体は DNA(デオキシ

リボ核酸)という化学物質で、ヒトの細胞の場合、約 2 万 2 千個の設計図があるといわれています。今回の遺伝子治療ではヒト  $\beta$  型インターフェロン遺伝子が用いられます。この遺伝子が作り出すヒト  $\beta$  型インターフェロン蛋白は以前より腎細胞癌の治療に用いられてきましたが、遺伝子を使うことで蛋白よりもっと効果的な治療効果が得られることが基礎的な動物実験などで確かめられています。

## ② 遺伝子導入担体(ベクター)とは

遺伝子を細胞に運び込むために用いられる遺伝子導入担体をベクターと呼びます。大きく分けてベクターにはウィルスベクターと非ウィルスベクターの2つがあります。ウィルスベクターとは、治療のための遺伝子を組み込んだウィルスです。もちろん本来のウィルスの持っている病原性はさまざまな方法で弱められていますが、大量に使用したときには問題が起こる可能性も指摘されています。一方、非ウィルスベクターとは合成脂質など人工的に合成されたベクターの総称です。様々な種類のものが研究・報告されていますが、今回の遺伝子治療では正電荷多重膜リポソームと呼ばれる非ウィルスベクターを用います。

## ③ 腎細胞癌に対する遺伝子治療の種類

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いました。彼らの報告によると、18 人に対し実施し、1例で腫瘍の50%以上の縮小効果を認めています。13例は治療開始後12ヶ月以内に死亡しています。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)が報告されていますが、重篤なものはありませんでした。同様の遺伝子治療は1999年から日本でも4人に対し実施されました。しかしこの臨床研究では、どの患者さんにも50%以上の腫瘍の縮小を確認できませんでした。4例ともすでに亡くなり、治療開始後の生存期間は7ヶ月、45ヶ月、72ヶ月、103ヶ月でした。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)、が報告されていますが、重篤なものはありませんでした。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ます。中でも Galanis らは、インターロイキン2遺伝子を用いた、非ウィルスベクター(正電荷リポソーム製剤;詳しくは後に述べます)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年に報告しています。使用した遺伝子は異なりますが、この臨床研究の実施方法は、私たちが行う臨床研究と比較的類似しており、同じ種類の非ウィルスベクターを用いて遺伝子治療を行っています。その報告によると、登録31症例が腎細胞癌患者であり、1例(3%)で著効、2例(6%)で有効、7例(23%)で安定、21例(68%)で進行という結果でした。また、この臨床研究では最大4,000  $\mu$ g という比較的大量のプラスミド DNA を皮下、リンパ節、肝臓、腎臓、副腎、後腹膜、胸壁などに対し週1回、計6回注入しています。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、報告されていますが、重篤な副作用は認められませんでした。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%と報告されています。

④ 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脳腫瘍(グリオーマ)、皮膚癌(悪性黒色腫)に対する遺伝子治療

今回あなたに使用予定のヒト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遺伝子治療は、5人の脳腫瘍の患者さんに対して、名古屋大学医学部附属病院にて、また、5人の皮膚癌(悪性黒色腫)の患者さんに対して、信州大学医学部附属病院において、すでに実施されています。この2つの遺伝子治療臨床研究の内容と結果のまとめを以下の表に示します。両方の遺伝子治療とも、認められた副作用はすべて軽度で、特に問題になるものはなく、遺伝子治療と直接の関連が疑われたものはわずかでした。

脳腫瘍に対する治療効果については、一時的に2人(40%)の患者さんの脳腫瘍が50%以上縮小しました。5人の脳腫瘍の患者さんとも、すでに亡くなっていますが、腫瘍が50%以上縮小した2人の患者さんが治療開始後に生存した期間は、26および29ヶ月であり、腫瘍の縮小が認められなかった3人の患者さんより、明らかに長いものでした。

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
DNA1回投与量	15μg(2回/週) 30μg(1回/週)	10μg/病変(1cm未満:1病変;2例、3病変:2例) 30μg/病変(1cm以上2cm未満:1病変;2例)
投与間隔	4例:30μg/回、1回/週 1例:1回目:30μg/回、2-6回目:15μg	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:87μg(30-120μg)	平均:132μg(60μg:2例、180μg:3例)
副作用 (本治療と直接関連が薄いもの)	貧血;3例(軽度:術後一過性) 白血球減少;1例(軽度:一過性) 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)	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る)

対象疾患	悪性グリオーマ(脳腫瘍)	悪性黒色腫(皮膚癌)
	髄液鼻漏;1例(軽度)、髄膜炎;1例(軽度) 術後気胸;1例(軽度)	
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℃)
有効性*(治療した 腫瘍の縮小効果)	有効;2例、不変;3例	完全消失;1例、不変;1例、進行;3例
有効性**(総合判定)	有効;2例、不変;3例	不変;1例、進行;3例、 増大と縮小の混在;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)

\* 有効;病変の50%以上の縮小

\*\* 有効;病変の50%以上の縮小

また、皮膚癌(悪性黒色腫)に対する効果については、ヒトβ型インターフェロン発現プラスミド埋正電荷リポソーム製剤が投与された病変部のみで評価すると、1人の患者さんで完全消失しましたが、1人で不変、3人で進行しました。病変部全体での評価では、どの患者さんにも有効性を確認できませんでした。3人の皮膚癌(悪性黒色腫)の患者さんが治療開始後、6-11ヶ月で亡くなっていますが、2人の患者さんは、治療開始後12ヶ月の時点で生存しています。残念ながら、この脳腫瘍と皮膚癌の10人の患者さんの中では、最終的に癌が治った方はいません。

## (2) 今回の遺伝子治療について

今回の遺伝子治療では、癌細胞に入れる遺伝子としてヒトβ型インターフェロン遺伝子を、遺伝子を細胞内に運び込むための物質であるベクターとしてリポソームを、それぞれ用います。

### ① ヒトβ型インターフェロン遺伝子

ヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させるためにプラスミド pDRSV-IFNβを用います。プラスミド pDRSV-IFNβとは輪になったDNAで、この中にはヒトβ型インターフェロン遺伝子を発現させる引き金となるプロモーターとヒトβ型インターフェロン遺伝子が組み込まれています。プラスミド pDRSV-IFNβが腎細胞癌の細胞の中に入りますと、細胞の中で遺伝子が動き出してヒトβ型インターフェロン蛋白が作られます。今まで行われた培養細胞や動物を用いた実験では、ヒトβ型インターフェロンが腎細胞癌の細胞内で働き始めますと、遺伝子が働いた細胞の多くは死滅することがわかっています。さらに遺伝子が働くことによって作られたヒトβ型インターフェロン蛋白は細胞の外に分泌され、まわりの腫瘍細胞の増殖を

抑えたり、免疫力を高めたりすることが期待されています(付図1)。これまでの研究により、この遺伝子治療によって、培養細胞や動物に対する基礎的実験においては、単にヒト $\beta$ 型インターフェロン蛋白のみの投与に比べて優れた治療効果が得られる可能性が示されています。

## ② リポソーム

脂質の二重膜で作られた小さな容器(マイクロカプセル)をリポソームと呼びます。リポソームは昔から抗癌剤などの薬の細胞内への導入法としての研究が行われていました。しかし、実際に臨床で薬として用いられているリポソーム製剤は現時点でもありません。また、遺伝子を運ぶ能力は低かったので遺伝子治療への応用はむずかしいと考えられていました。しかしリポソームの表面にプラスの電気を帯びさせることで、その中に包埋できる遺伝子の量が6-8倍に増えその結果として導入された細胞内での遺伝子発現が25-27倍に高まることが確認され、遺伝子導入担体としての能力が高まりました(付図2)。今回の遺伝子治療では私たちが新しく開発したリポソームがベクターとして使われます。

## ③ IAB-1

上で説明しましたプラスに帯電したリポソーム製剤の中にヒト $\beta$ 型インターフェロンを発現させるプラスミドを包埋したものをIAB-1と呼びます。今回の遺伝子治療では、IAB-1を病巣部に直接注入します。

## ④ 今回の遺伝子治療の方法とそれを選んだ理由

腎細胞癌の細胞が他部位にまで及んで増殖した段階(癌の転移)では先に述べてきたように現在行われている治療だけでは完全に治すことは困難です。特に既に手術や免疫療法などがおこなわれてきたにも関わらず、再発してきたケースではその傾向はいつそう強く見られます。また、合併症や副作用などのために外科療法や免疫療法などを施行できないこともあります。以上のような場合、他に有効な治療法は存在しないのが実情です。そこで今回、ヒト $\beta$ 型インターフェロン遺伝子を使う治療を考えたわけです。ヒト $\beta$ 型インターフェロン遺伝子を取り込んだ腎癌細胞は、病巣内に高濃度のヒト $\beta$ 型インターフェロンを産生しつつ死滅していくことが、我々の行った培養細胞や動物を用いた実験で確認されています。

また、今回の遺伝子治療で使用するIAB-1の毒性については、ラットおよびカニクイザルを用いた静脈内投与および脳内投与の実験で検討しました。各実験では、投与量を変えて毒性の発現について比較しましたが、死に至るような重篤な副作用は認めませんでした。よって、概略の致死量は最大投与量以上と判定されました。副作用として、体重増加の抑制、摂餌量の減少が見られましたが、すべて軽度で一過性でした。軽度の精子形成低下を1匹のラットで認めました。血液検査では、白血球増加、血小板減少が見られましたがすべて軽度で一過性でした。また、脾臓の重量増大、リンパ節腫大を認めましたが、病理組織検査では特に異常を指摘されませんでした。本臨床研究で想定されるDNAの最大総投与



量は、ラットへの連日静脈内投与の結果にもとづき算出されるヒトでの総投与安全量の 14% 以下(男性)もしくは9%以下(女性)にすぎず、また本臨床研究で用いる1回あたりの最大投与量は、ラットへの連日静脈内投与の結果にもとづき算出されるヒトでの1回投与安全量の約40%であります。以上より、本臨床研究における遺伝子治療製剤の投与は安全に行い得ると推測されます。あなたに対しては、すでに本遺伝子治療製剤の投与を計6回もしくは12回行っていますが、あなたに対する効果と安全性が確認されています。

## 4. 具体的な手順について

### (1) 手順

まず今回の遺伝子治療のおおまかな流れ(概要)を示します。あなたに対してこれまでに行った本遺伝子治療製剤を用いた治療と同様に行います。

- 1) あなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを定めるための事前検査を行います。
- 2) 転移巣(肺、肝臓など)あるいはリンパ節(表在および深部リンパ節)の腫瘍病巣内に遺伝子治療薬(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)を注入します。この操作を週1回、6週間、合計6回施行します。1度に注入する病巣の個数は1個から数個とし、DNAの1回総量を250μgまでとします。
- 3) 本臨床研究の目標症例数は5例です。また実施期間(病院長の最終的な実施の認可を得てから、5人目の臨床研究に関する登録が終了するまでの期間)は2年を予定しています。

以上が概要です。以下にこの遺伝子治療を行うために必要な手順を詳しく説明します。

#### ① 事前検査

これはあなたが今回の遺伝子治療の対象となりうるか否かを定めるため、必要な検査です。

##### 1) 血液検査

貧血・出血傾向の有無、肝臓・腎臓・心臓などの各臓器の働き、栄養状態を調べます。

##### 2) 尿検査(早朝尿)

腎臓の働きや感染症の有無を調べます。

##### 3) 病巣の大きさの計測

肉眼的、あるいは超音波、X線検査(CT、MRIなど)で、全身の病巣を検出し、各病巣の大きさを計測します。

##### 4) 皮膚テスト

今回の遺伝子治療で用いられる遺伝子治療薬に対してアレルギーがないかどうかを調べます。

##### 5) 遺伝子発現の検索

治療前後の病変部におけるインターフェロンなどの遺伝子発現についても検索致します。

これに関する同意書は別に定め、京都府立医科大学ならびに共同研究施設の該当する委員会の承認を得て、実施致します。この場合もあなたに十分な説明を行い、自発的な同意を得た上で検査を実施します。なお、原則として本研究において解析される生体試料を他の目的のために用いることはありません。ただし、あなたに同意していただければ、将来の研究のための貴重な資源として、あなたの生体試料を符号化し、人名を特定できないようにした上で研究終了後も保管させていただきます。なお将来、その試料を研究に用いる場合は、改めてその研究計画書を倫理委員会等に提出し、承認を受けた上で利用させていただきます。

以上の事前検査から、以下の基準を満たす人が今回の遺伝子治療の継続の対象となります。

- 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おり、転移を有する(手術施行時に転移を認めたか、もしくは術後に転移を認めた場合)。
- 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。
- 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。
- 転移病巣に対して、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 などの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含む保険適応のある従来の治療法を施行したにもかかわらず、無効であった、あるいはこれらの治療の適応がないと判定された。ただし、前治療が行われていれば、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場合。
- 仮に無治療の状態でも6ヶ月以上は生存できると主治医が判断した場合。
- 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。
- 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たす。
  - 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  $< 1.5\text{ mg/dl}$
- 40 歳以上 75 歳未満。
- 無症状であるか、あるいは症状があったとしても歩行、軽作業が可能。
- 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場合。
- Sarcomatoid RCC、collecting duct carcinoma などの特殊なタイプの腎細胞癌でない。
- 脳などの中枢神経系の転移を有さない。
- 狭心症、心不全がない。または、心筋梗塞の既往があっても、梗塞後1年以上経過しており、循環器の専門医が本治療を可能と判断した場合。
- コントロール不可能な糖尿病や高血圧がない。
- 活動性のウイルス性肝炎がない。
- HIV 抗体(いわゆる AIDS(エイズ)検査)が陰性。

- ・ 精神科で加療を要する精神病、または精神症状を有しておらず、精神科への受診の既往があっても、精神科専門医から臨床研究への参加が可能と判断された場合。
- ・ 妊娠中、あるいは妊娠の可能性のない女性、授乳中でない女性。
- ・ 活動性の重複癌を有さない。
- ・ 活動性の感染症がない。
- ・ 前処置を含む本臨床研究に用いる薬剤に対して、過敏症の既往を持たない。
- ・ 本遺伝子治療製剤による治療をすでに受けており、その効果と安全性が確認されている。
- ・ その他、担当医の判断で適当と見なされた場合。

これらの条件および事前検査の結果などから、あなたの同意があっても最終的に本臨床研究の継続ができない場合があることをご了承ください。

## ② 遺伝子治療の内容

転移巣(肺、肝臓など)あるいはリンパ節(表在および深部リンパ節)の腫瘍病巣内に超音波またはCTガイド下に専用の穿刺針を刺入して、ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を微量注入ポンプを用いて直接注入します。なお、過去の腎腫瘍生検のデータなどから考えて、穿刺針を刺すことにより腫瘍が広がる(播種)などの副作用の可能性は低いと考えています。リン酸緩衝液1ml中に $30\mu\text{gDNA}$ を含有する製剤を注入します。腫瘍あたりの製剤注入量は、腫瘍体積と同容積とし、1回当たりの注入DNA総量の上限を $250\mu\text{g}$ (8.3ml)とします。つまり、治療対象とする腫瘍の総体積の上限を8.3mlとします。注入は週1回、合計6回を1コースの予定で行います。1回の治療時間は1~3時間程度を予定しています。治療の際には遺伝子治療製剤の注入前に、穿刺予定部の皮膚より局所麻酔剤を作用させ、疼痛の軽減を図ります。病巣が多発している場合には、2個以上の病巣に合計 $250\mu\text{gDNA}$ (8.3ml)までの同製剤を注入する予定です。

腫瘍の大きさの変化は、製剤の注入毎にCTスキャンあるいは超音波にて評価していきます。また、1回目および6回目の遺伝子治療製剤注入の際には、それに先立って遺伝子治療製剤注入予定部位から、専用の組織生検用穿刺針を用いて腎細胞癌の組織を採取します。採取した組織を用いて治療効果判定および研究の目的で、以下の遺伝子や分子について科学的に解析する予定です。

1. HE染色(病理組織学的検査用)
2. 免疫染色(CD3, 4, 8, macrophage, NK, apoptosis など)
3. 遺伝子発現(RT-PCR:IFN- $\beta$ , TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-1 $\beta$ , IL-2, IL-4, IL-6)

さらに、今回の遺伝子注入がすべて終了しても、遺伝子治療開始後8週間は、可能な限り毎週、血液検査とレントゲン検査などにより、全身状態・腫瘍の大きさなどを調べていきます。

ここまでの治療スケジュールを付図3に示します。

最終的には治療開始から7週後と11週後に、主治医がこの治療法の安全性と有効性を

総合的に検討します。さらに投与開始から13週後に、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にて安全性と有効性が評価されます。11週目のCTやレントゲン検査などで、遺伝子治療製剤を注入した病巣の一つ以上で腫瘍の縮小効果もしくは腫瘍の増大を抑制する効果が認められ、継続が困難となるような副作用をふくむ有害事象を認めなければ、患者さんが追加治療を希望された場合にのみ、総括責任者の判断で上述と同様の遺伝子治療を合計3コースまで追加できるものとします。ただし、その追加コースごとに同意書をいただくこととなります。

なお、本遺伝子治療を実施中に中枢神経系(脳)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いたします。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しますが、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します。いずれの場合も、患者さんに病状を説明し了承をいただいてから治療を開始いたします。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、患者さんに病状を説明した上で他の治療へ変更いたします。

ご本人またはご家族の同意をいただいた上で、不幸にして死亡された場合には、直接の死因を明らかにするために、ご遺体の病理解剖を原則として実施させていただきたく存じます。以上をご了承頂きますようお願いいたします。

### ③ 現時点で想定できる不測の事態

- 1) 直接針を刺すことにより腫瘍内あるいは周囲臓器から出血を来すことがあります。出血の程度によっては、輸血や手術による止血が必要となることも想定されますが、これまでの腎腫瘍生検のデータよりその可能性は極めて低いです。
- 2) 針を刺した部位の感染症の可能性がありますが。また腫瘍を直接、針で刺すために、それに沿って腫瘍が広がる可能性があります。過去の腎腫瘍生検のデータなどから考えて、その可能性は極めて低いです。
- 3) 注射された物質に対するアレルギー反応として、ショック状態、発熱、悪寒、発汗、めまい、息切れ、胃腸の痛み、はきけ、嘔吐、下痢などの可能性があります。
- 4) 病巣内へのヒト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の注入により転移が促進されるのではないかと、という懸念を持たれるかもしれませんが、インターフェロンβは腎細胞癌の転移を抑制する作用を有することが知られており、転移促進の危険性は低いものと考えます。
- 5) 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として、ショック状態、発熱、悪寒、発汗、めまい、息切れ、胃腸の痛み、はきけ、嘔吐、下痢などの可能性があります。
- 6) 同様の方法でプラスミドを投与した遺伝子治療の報告では、肺転移への投与で気胸が、肝臓への投与で一過性の低血圧が報告されています。本遺伝子治療でも、これらが

生じる可能性はあります。気胸の程度によっては、胸腔のドレナージが必要になります。

## (2) 遺伝子治療薬以外の薬の使用制限について

あなたがこの遺伝子治療の追加を選択した場合には、本遺伝子製剤を用いた追加治療を開始する日からさかのぼって4週間以内および遺伝子治療中、さらに遺伝子治療薬の最終回投与後に続く5週間は、あなたから特別な要望がなく、あなたの容態が急変しない限り、腎癌に対する他の治療は何も行わないことになります。

もちろん、腎癌以外の病気(例えば肺炎・胃潰瘍など)に対しては最善と考えられる治療を実施します。また、遺伝子治療によると考えられる症状(発熱・疼痛など)に対しても、最善と考えられる治療を行います。

## (3) 遺伝子治療実施後の中止の方法について

以下に示す事態が生じたときには遺伝子治療を中止します。

- ① 遺伝子治療に着手した後も、あなたから「中止してほしい」という希望が出されれば、その意向を尊重し、以後の遺伝子治療を中止します。
- ② 遺伝子治療開始後に重篤な副作用が出現した場合、あなたにその旨をお伝えし、遺伝子治療を中止します。
- ③ 遺伝子治療中にあなたの体に腎細胞癌以外の問題がみつき、かつその問題が重大と判断された場合には遺伝子治療を中止します。
- ④ 遺伝子治療の総括責任者が遺伝子治療の継続が難しいと判断した場合は、遺伝子治療を中止します。

## 5. 効果判定と追跡調査について

治療効果については以下に示す項目をもって評価します。

- ① 腫瘍の縮小効果
- ② 遺伝子治療薬が最初に投与されてから腫瘍の増大が確認されるまでの期間
- ③ 遺伝子治療薬が最初に投与されてからの寿命
- ④ 機能的改善度(自覚症状や歩行、食事などの生活上の問題)

上に述べられた項目を基にこの研究の治療効果を評価するためにあなたには治療開始後少なくとも1年間は追跡調査にご協力いただくことになります。この期間中は原則4週間ごとに検査および病状の評価を行います。ですから、本遺伝子治療終了後であっても、あなたが他の医療施設にかかったり、他の治療を受けたりした場合、またそこでもらった薬や薬局で買った薬などがあった場合には、本臨床研究の主治医にその事を連絡していただく必要があります。

また、再発時には本人と現在の病状、本臨床研究の経緯及びその効果について十分に話し合いを行った後、可能な治療があればそれを実施します。

なお、1年間の追跡調査が終了し本臨床研究が終了した後も、一般の腎細胞癌患者さんの経過観察と同様に、外来通院にて血液検査やレントゲン検査を行い少なくとも2年間の追跡調査を実施いたします。これは、あなたにとって不利益となる副作用が生じないかを経過観察し、生じた場合は速やかに対応するためです。また、病状の変化を把握し、病状に応じた治療および検査を行なうためです。

## 6. あなたの保護について

あなたの生命と身体の安全を保護するために、遺伝子治療を担当する医師以外の委員で構成される審査委員会が治療開始13週後に本遺伝子治療の安全性(重篤な副作用がないか)と有効性(腫瘍の縮小効果もしくは腫瘍増大を抑制する効果があるか)を評価します。あなたの診療に関する記録は、当院で保管し、秘密を厳守します。またこの遺伝子治療の結果を医学雑誌や学会で報告する場合にも、あなたのプライバシーは守られます。

## 7. 費用について

遺伝子治療実施の目的で入院中の、医療費については健康保健等の公的医療保険は適用されませんが、この遺伝子治療臨床研究実施に係る医療費については、京都府立医科大学附属病院が負担するため、あなたが負担する費用はありません。ただし、交通費や宿泊費、研究参加に係る謝礼金などの給付はありません。また、この遺伝子治療臨床研究の実施期間中であっても、この研究と関係のない病気に要する医療費については、今まで通り公的医療保険が適用され、その費用の一部を負担していただきます。

## 8. 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について

本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合には、担当の医師、または、看護師へすぐにお知らせ下さい。専門の医師が直ちに適切な処置を行います。なお、本遺伝子治療臨床研究との関連が否定できない副作用の場合、この副作用に対する治療費について京都府立医科大学附属病院が負担いたしますので、患者さんの医療費負担はありません。ただし、患者さんの副作用と本遺伝子治療臨床研究との因果関係に関する判定は、私達とは利害関係が無く、当院において本遺伝子治療臨床研究のために設置している「安全・効果評価・適応判定部会」で検討して行います。また、医療費以外の実費(通院のための交通費、宿泊費など)や、療養による休業中の補償金、その他補償金については受けられません。

## 9. セカンドオピニオンについて

我々はあなたの本研究に関する疑問点には、可能な限りお答えする準備をしています。しかし、それでも不明な点がある場合や、他の人の意見も別に聞きたい場合などには“セカンドオピニオン(その領域について十分な知識のある第三者の意見)”を求めていただいても構いません。また、そのことにより、あなたがいかなる不利益も被ることはありません。

## 10. 個人情報の保護について

### (1) あなたの個人情報の取り扱いにおける京都府立医科大学附属病院の責務

京都府立医科大学附属病院で扱っているあなたの診療記録などをはじめとするあなたの情報は個人情報に当たります。あなたの診療記録は法律(刑法)で定められた「医師の守秘義務」に則り、京都府立医科大学附属病院にて厳重に管理し、秘密保持を厳守します。その他、京都府立医科大学附属病院で働いているものも守秘義務をまもる事が定められています。さらに、京都府立医科大学附属病院では個人情報を保護することを徹底するために京都府個人情報保護条例に基づいて、適切な管理者等を配置し、個人情報の保護に努めております。

### (2) 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 100 年を越える歴史を持ち、地域における中核病院として、高度の医療、質の高い医療を提供することに努めて参りました。このような活動を通じて、さらには医学教育機関としてこれまで以上に優れた医療人を育成するという、社会的な責務を担っております。

つきましては、京都府立医科大学附属病院におけるあなたの貴重な個人情報を含む記録を医療機関として、また教育機関として利用させて頂きたいと思っております。あなたの個人情報は、各種法令や各種法令に基づいた院内規程を遵守した上で以下の目的のために利用されますので、あなたのご理解とご協力をいただけますようお願い申し上げます。

#### ① 京都府立医科大学附属病院での利用

- あなたがお受けになる医療サービス
- 医療保険事務
- あなたに関する管理運営業務  
(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(本遺伝子治療臨床研究を含め、研究活動を実施する際に、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、それを遵守して誠実に遂行致します)

#### 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する照会への回答
- ・ あなた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
- ・ あなた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

(3) 本臨床研究の遂行に必要なあなたの個人情報の使用について

(2) に掲げました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、本遺伝子治療臨床研究の実施にあたっては、さらに本臨床研究を遂行するために必要な利用目的のためにも使用されます。これは原則的に、本臨床研究の実施に関する緊急事態の発生に際する、ご連絡やお手続き、検査のご連絡、あなたの生命を守るために必要な場合です。

あなたの個人情報に接することが可能なのは、本臨床研究実施関係者に加え、第三者となるこの病院の審査委員会、監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者のみです。これら第三者におけるあなたの個人情報の取り扱いならびにその監督については、後述します。

これらの目的と異なる目的のために、あなたの個人情報を使用する場合は、事前にあなたおよび、あなたの家族(あるいは親族)にご説明し、了解を得てから使用いたします。本臨床研究は、京都府立医科大学附属病院内で実施するため、あなたを特定する情報を上記以外の第三者へ提供することは原則的にありません。

第三者へ情報を提供する必要がある場合は、その目的が適切であることを確認し、あなたおよび、あなたの家族(あるいは親族)にご説明の上、ご了承を頂いた場合に限り提供させていただきます。

(4) あなたの個人情報を閲覧可能な第三者と、京都府立医科大学附属病院の個人情報管理と監督

前述のように、本臨床研究においては、主にこの病院の医師などからなる審査委員会・監査委員会の人や、厚生労働省や文部科学省の審査委員会の人および同省の担当者が、あなたの



診療記録を閲覧することがありますが、このような人たちには守秘義務が課せられており、あなたの個人情報 は全て秘密とされます。

一方、この病院の審査委員会や監査委員会には、審査等の客観性を確保するため、あるいはあなたの病状や診療に関わるより専門的な医学的・科学的知識の提供を受けるために京都府立医科大学附属病院以外の外部の委員が参加しています。このような方々は第三者に相当しますので、このような場合については京都府立医科大学附属病院と第三者の秘密保持契約のもとで行われます。従ってあなたの個人情報は全て秘密とされます。

(5) あなたの病状情報の公開による社会への還元と、その際のあなたの個人情報の管理措置  
上記のような個人情報保護の体制のもと、あなたの情報は医療の向上のため、本臨床研究の成果を検討するときや、病状経過、試験成績などを公表・公開する場合は、あなたであることを特定できない形で、すなわち個人情報を完全に保護した状態で取り扱います。遺伝子治療臨床研究は社会的に広く関心を集めておりますため、病状経過などについては、個人を特定できない状態での公開(学術雑誌、学会、マスコミを含む)を原則として行います。その際は、あなたの個人情報を厳守して実施することをお約束しますのでご了承ください。

(6) あなたの個人情報の管理におけるあなたの権利  
本臨床研究で取り扱っている個人情報について、あなたが開示、訂正、利用停止を求めることができます。あなたが個人情報について疑問などがある場合には、担当医師にお問い合わせください。そのお申し出に応じて、手続きに関する詳細をご説明いたします。

また、担当医師とは別に個人情報に関する苦情等の窓口もございますので、疑問等がございましたらお問い合わせください。

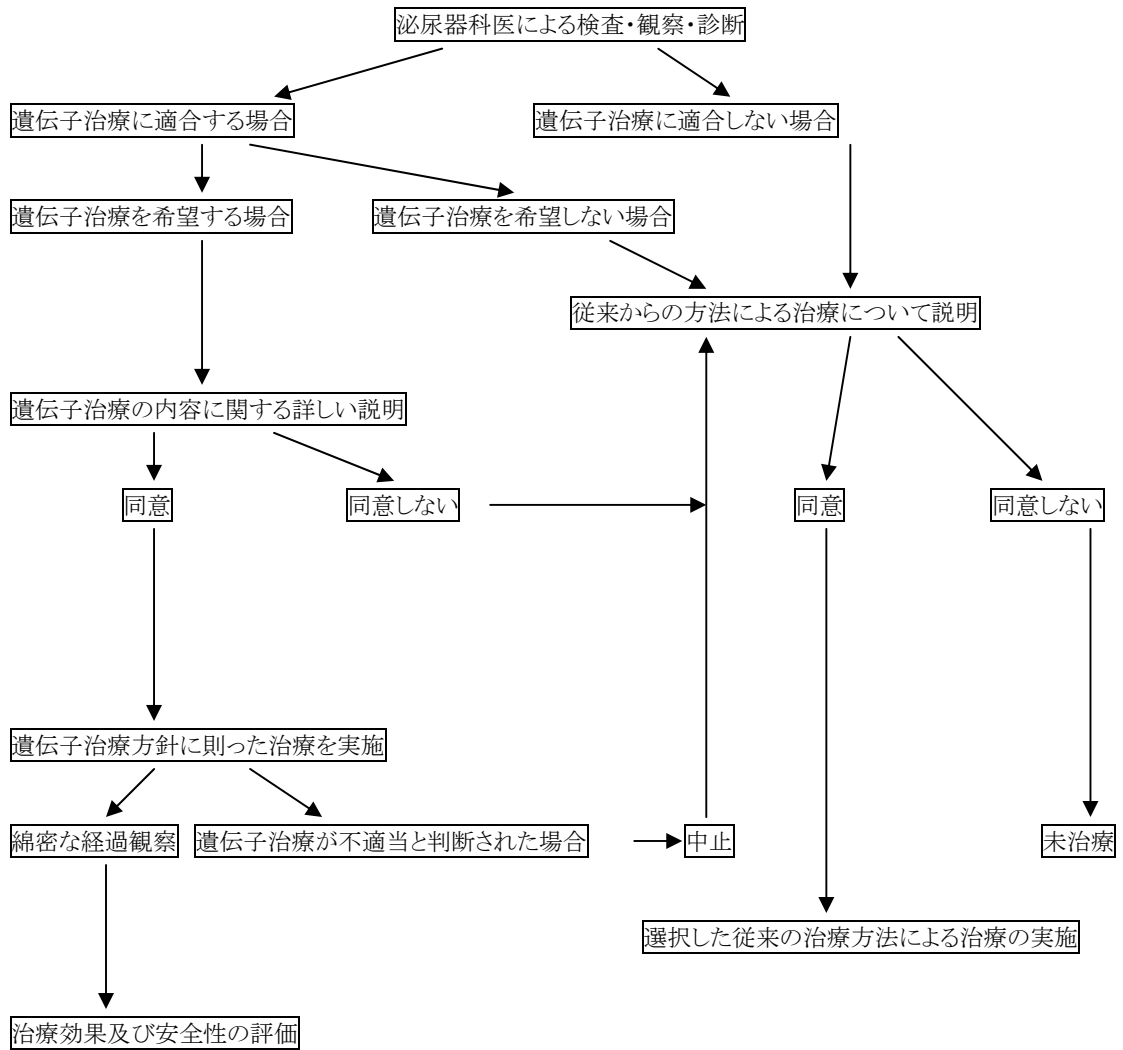
**【個人情報に関する苦情等の窓口】**

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

以上説明させていただきました一連の臨床研究の流れを一覧表にしますと、付表1のようになります。

付表1. 治療計画の流れ



## 11. 問い合わせ先

総括責任者および共同研究者らは、この臨床研究についてあなたに詳しくそして分かりやすく説明できるようにこの説明文を作成し、またあらゆる質問に答えられるよう準備をしております。もしあなたがこの臨床研究に関連して、なにか質問したい場合には、通常の勤務時間内であれば三木恒治、若しくは主治医に連絡して下さい。でき得る限りすみやかに対応できるよう準備致します。外泊時・帰宅時など、今回の臨床研究現場(病院)から離れた場所で発生した医療上の緊急事態には、連絡が取れる方であればどなたでも構いませんので、下記の連絡先を通じて、担当医への連絡を依頼して下さい。

連絡先: 京都府立医科大学附属病院泌尿器科

電話: 075-251-5595 (京都府立医科大学附属病院泌尿器科医局)

075-251-5646 (京都府立医科大学附属病院救急医療部)

FAX: 075-251-5598 (京都府立医科大学附属病院泌尿器科医局)

## 12. 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制

この研究は進行期腎細胞癌に対するヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる臨床研究の安全性及び医学的効果(治療効果)を評価するために、生命維持が施行直前に困難な状態ではない患者さんを対象として計画され、以下に示す研究者の総意によって実施されるものです。なお、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致します。

臨床研究の正式名称: ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究

実施施設: 京都府立医科大学附属病院

実施施設長: 京都府立医科大学附属病院病院長

岩井直躬

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

共同研究者: 京都府立医科大学医学部医学科・腫瘍薬剤制御学・准教授

高羽夏樹

共同研究者: 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

河内明宏

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・講師  
冲原宏治

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・助教  
三神一哉

共同研究者:京都府立医科大学大学院医学研究科・泌尿器外科学・助教  
中村晃和

共同研究者: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  
山上卓士

共同研究者:名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授  
若林俊彦

共同研究者:独立行政法人国立病院機構 東名古屋病院・院長  
吉田 純

共同研究者: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  
水野正明

### 13. 書類その他

この説明書と同意書の原本は京都府立医科大学附属病院で保存します。今後の参考と個人的な記録としてこの書類の写しをあなたにお渡しますので大切に保存して下さい。

私は患者 殿(代諾者 殿)に対して、この遺伝子治療臨床研究の目的、必要性、危険性、合併症などについて説明いたしました。

年 月 日

京都府立医科大学附属病院

役職

説明者医師 (印)

## 「ヒト $\beta$ 型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる 進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」の追加継続に関する同意書

京都府立医科大学附属病院長 殿

私は、「ヒト  $\beta$  型インターフェロン発現プラスミド包埋正電荷リポソーム製剤を用いる進行期腎細胞癌の遺伝子治療臨床研究」の追加継続について、口頭および文書により説明を受け、下記の内容を理解しました。また、私は、この遺伝子治療臨床研究について主治医と話し合い、私が抱く疑問について主治医及び研究者に尋ねる機会を持つことができました。私は、私の自由意思により、この遺伝子治療臨床研究への参加を継続することに同意します。また、この遺伝子治療を行う上で必要な処置を受けること、及びこの治療中に予測し得ない状況が発生した場合にそれに対処するための緊急処置を受けることにも併せて同意します。この臨床研究への参加に一旦同意した後でも、いかなる不利益を被ることなく、この臨床研究への参加を随時拒否することができることについても説明を受け理解しています。

- あなたの病気(腎細胞癌)について
- あなたの病気(腎細胞癌)の治療法について
- 遺伝子治療について
- 具体的な手順について
- 病巣部を治療効果判定および研究の目的で生検することについて
- 病理解剖について
- 効果判定と追跡調査について
- あなたの保護について
- 費用について
- 本遺伝子治療臨床研究に関わる副作用が生じた場合について
- セカンドオピニオンについて
- 個人情報の保護について
- 問合せ先・緊急連絡先
- 遺伝子治療臨床研究の正式名称と実施組織体制
- その他

年 月 日

患者

住所:

氏名:

署名

(印)

患者親族または理解補助者

住所:

氏名:

(続柄: )

署名

(印)

説明医師(担当医)

所属:

氏名:

署名

(印)

立会人

連絡先または所属 :

患者との関係:

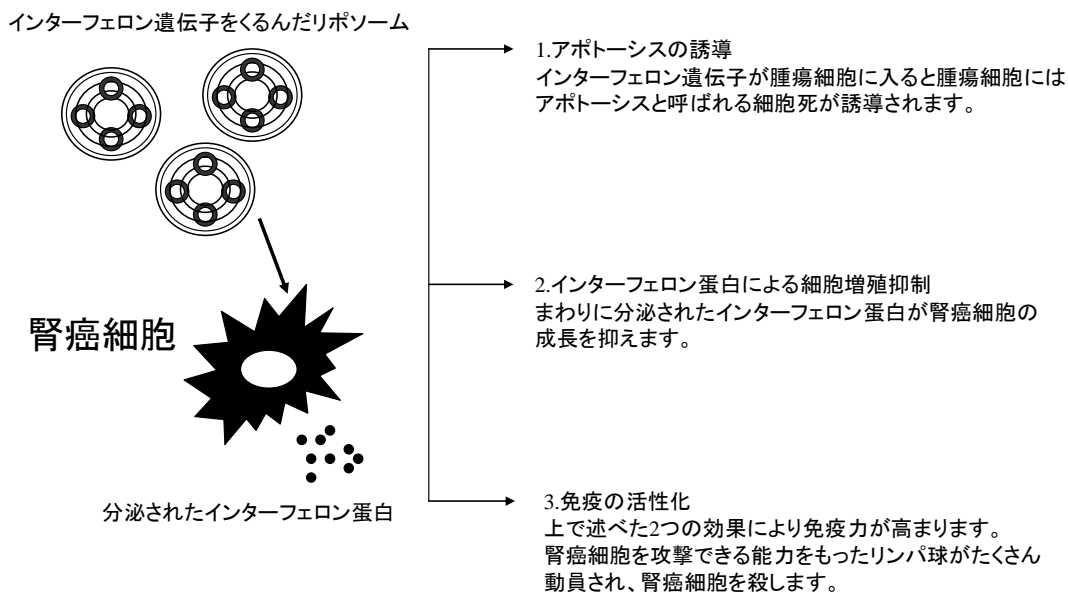
氏名:

署名

(印)

## 付図1:リポソーム包埋ヒトβ型インターフェロン遺伝子による腎細胞癌への抗腫瘍効果

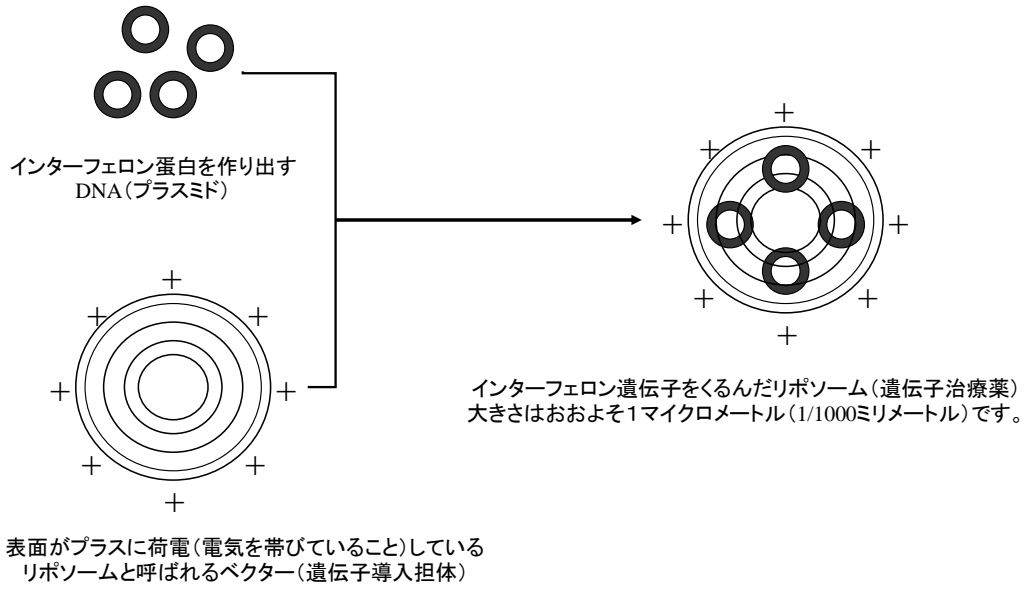
リポソームにくるまれたヒトβ型インターフェロン遺伝子による遺伝子治療は以下の図に示すメカニズムで腎細胞癌を殺します。



注:これらの抗腫瘍効果は、これまでの培養細胞あるいは実験動物での検討によって確認されたものです。人間の治療においても同様の効果が期待できると考えておりますが、人間において上記のような効果が実証されているわけではありません。



付図2: 遺伝子導入に用いられるリポソーム製剤の模式図



付図3.

治療スケジュールを以下に示します。

リボソーム製剤の投与	1回目		2回目		3回目		4回目		5回目		6回目		
	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	Day36 治療後
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 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					
腫瘍径の測定	○	○	○	○	○
血液検査	○	○	○	○	○
尿検査	○	○	○	○	○
安全性の評価	○	○	○	○	○
腫瘍生検（病理検査、 免疫染色、遺伝子発現）					
プラスミドDNAのPCR （血液、尿）	○				○
血中抗プラスミド抗体	○				○
血中サイトカイン	○				○
血中CD4/8	○				○

(上記のように1コースを11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	○