

11. 当該遺伝子治療臨床研究の実施施設の状況

総括責任者の齋田及び共同研究者（松本、宇原、久保、関、木庭）は信州大学医学部附属病院皮膚科を中心にこれまでに200例以上の悪性黒色腫患者の治療に携わっており、十分な臨床経験を有するとともに、悪性黒色腫の新しい治療法の開発のための臨床的研究（固層化 CD3 活性化 T 細胞を用いる養子免疫療法、抗原ペプチド刺激樹状細胞療法、新たな併用化学療法 DTIC-ACNU-CDDP-Tamoxifen 療法の開発、sentinel node biopsy の有用性に関する研究）、ならびに基礎的研究（SEREX 法による新規悪性黒色腫抗原の同定、腫瘍巣内血管の脆弱性に関する研究、抗イディオタイプ抗体によるワクチン療法の研究など）を行い、多方面にわたって成果を上げている。齋田は厚生労働省がん研究助成金による悪性黒色腫研究班の班員・班長や日本皮膚悪性腫瘍学会理事長を務めている。このように、信州大学医学部附属病院皮膚科は日本における悪性黒色腫の診断・治療の中心的施設として高く評価されている。また、共同研究者の吉田と水野は本遺伝子治療につき基礎的研究から臨床研究に至るまでこれまでに多くの研究成果を上げ、旧文部省、旧厚生省の許可をえたうえで、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る悪性グリオーマの遺伝子治療臨床研究を開始している。今回の悪性黒色腫の遺伝子治療に関しては、信州大学皮膚科と名古屋大学脳神経外科は1996年から共同研究を開始し、*in vitro*、*in vivo*において本遺伝子製剤が悪性黒色腫に対しグリオーマに勝るとも劣らない効果を発揮しうることを見出している。なお、信州大学医学部附属病院には既に遺伝子診療部が設置されており、その協力も得られることになっている。以上のように、本臨床研究チームはこの臨床研究遂行の能力を十分に備えており、研究開始の準備体制を整えている。

なお、本遺伝子治療臨床研究に用いる遺伝子製剤 IAB-1 は名古屋大学医学部附属病院遺伝子治療製剤調製室において水野、松本らが作製、調製したものを、凍結または凍結乾燥製剤として信州大学医学部附属病院へ輸送、保存し、患者に投与する。この製剤は、吉田らが既に国の許可を得て開始したグリオーマの遺伝子治療臨床研究で用いているものと同一の製剤である。

12. 悪性黒色腫の遺伝子治療に関する国内外の研究状況

(1) 悪性黒色腫に対する各種遺伝子治療の現状

悪性黒色腫は通常の化学療法、放射線療法にきわめて抵抗性であるため、新たな治療法が模索されてきた。その中で近年、期待を集めているのが免疫療法と遺伝子治療である。悪性黒色腫は細胞障害性 T リンパ球(CTL)に認識される抗原ペプチドの解析がもっとも進んでいる腫瘍であるので、樹状細胞をこれらのペプチドで刺激して患者に戻す治療法などが開発されつつある¹⁰⁾。しかし、なお実験段階のものであり、確立された治療法とはいえない。悪性黒色腫は遺伝子治療の臨床試験が最初に試みられた悪性腫瘍として知られている。すなわち、1992年米国の Rosenberg らは、進行期悪性黒色腫の腫瘍巣内に浸潤する TIL を取り出し、*ex vivo* で腫瘍壊死因子- α (TNF- α) の遺伝子をレトロウィルスベクターを用いて導入した後、メラノーマ患者へ静脈内投与した³³⁾。移入 TIL が腫瘍巣部へ浸潤することとこの治療法の安全性は確認されたが、TNF- α の発現レベルが低く、十分な臨床効果は得られなかった。ミシガン大学の Nabel らは1993

年、悪性黒色腫患者の皮膚転移巣にリポソームを遺伝子導入ベクターとして HLA-B7 遺伝子を導入し、CTL を誘導しようとした³⁴⁾。5人中2人で腫瘍の増大抑制がみられたが、治療効果のその後の経過は不明である。これは正電荷リポソームを用いた最初の遺伝子治療臨床研究であり、投与 DNA 量は 10~250 μ g であったが、有害事象は観察されなかった。また、Hui らは 19 例の各種の末期癌患者の皮膚転移巣へ HLA-A2、HLA-B13、murine H-2K 遺伝子を DC-chol/DOPE リポソームを用いて注入している³⁵⁾。この内、HLA-A2 を週 1 回 4 週間にわたって注入した 8 症例において 2 病巣の完全寛解を、4 病巣の部分寛解をみている。この治療による有害作用は特に認められず、安全に施行できたと報告されている。

その後、悪性黒色腫の遺伝子治療に関しては多数の *in vitro*、*in vivo* の研究が実施され、多くの基礎的知見が蓄積されている。これらの研究成果に基づいて臨床研究も試みられているが、その多くは悪性黒色腫細胞に免疫賦活作用を有するサイトカイン類の遺伝子を導入し、悪性黒色腫細胞に対する CTL の誘導やその活性化を狙う免疫遺伝子治療の範疇に属するものである。2001 年 5 月現在、表 5 に示すように、28 種のプロトコールについて計 81 の臨床試験が実施されている。導入遺伝子はインターロイキン 2 (IL-2)、インターロイキン 4、インターロイキン 7、インターロイキン 12 (IL-12)、GM-CSF、インターフェロン γ (IFN- γ) などのサイトカイン類の遺伝子が多いが、costimulatory molecule の CD80(B7.1)遺伝子、あるいは悪性黒色腫の腫瘍抗原遺伝子などの導入も試みられている。まだ少数例での第 I 相がほとんどであり、なお進行中のプロトコールも多く、治療法として確立されているものは存在しないが、興味深い知見が積み重ねられている。2003 年 2 月現在までに報告されている知見を巻末の付録資料 4) にまとめた。たとえば、Rosenberg らは悪性黒色腫抗原の MART-1 と gp100 の遺伝子を組み込んだアデノウィルス製剤を調製し、54 例の進行期悪性黒色腫患者へ投与する第 I 相臨床試験を施行した³⁶⁾。その結果、安全性が確認され、1 例の完全寛解を含む有効例を認めたが、IL-2 単独投与群に比べ有意に優れた成績は得られなかった。この臨床試験ではウィルスに対する中和抗体の出現が効果を減弱した可能性が示された。

英国の Palmer らは自己の悪性黒色腫に IL-2 を発現させ、放射線照射後に皮下注射し、12 例中 4 例で CTL 活性の増強を、1 例で腫瘍抗原に対する皮膚反応(DTH)の誘導を検出した。3 例では stable disease の状態が 7~15 カ月続いたという³⁷⁾。John Wayne Cancer Institute のグループは悪性黒色腫転移巣へ IFN- γ 遺伝子をレトロウィルスベクターで導入する臨床研究を 17 例に行った³⁸⁾。5 日間連日注入を 1 コースとし、1 コースのみの 9 例と 2 週毎に 6 コース実施した 8 例の 2 群について効果を検討した。局注病巣の反応は 6 コース群では partial or complete response が 3 例、stable disease が 5 例みられたが、1 コース群では反応は 1 例にみられたのみであった。臨床的に反応した患者では悪性黒色腫抗原(MAGE-A1, tyrosinase, gp100, TRP-2)に対する IgG 抗体の上昇が認められ、これらの抗体産生と全身的效果との間に相関が認められた。Kang らによれば、レトロウィルスベクターを用いて *ex vivo* で IL-12 遺伝子を導入した患者の線維芽細胞を悪性黒色腫などの進行期癌患者 9 例の転移巣周囲へ 7 日間隔で 4 回注入したところ、4 例で注入部の転移巣の縮小がみられ、悪性黒色腫の 1 例では非注入部の転移巣の縮小も認められたという³⁹⁾。悪性腫瘍の遺伝子治療における遺伝子製剤の投与

ルートに関しては、2001年9月現在の J Gene Med のデータベースによれば、腫瘍巣内へ直接注入する方法がもっとも多く行われており（全プロトコルの 24.7%）、対象患者 3464 人中の 1217 人（35.1%）を占めている。以上のように、悪性黒色腫などの免疫遺伝子治療では、遺伝子を導入された病巣部での効果のみでなく、非導入の他部位の病巣に対する効果も期待されていることが分かる。

(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⁴⁰⁾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・線維性嚢胞症・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一リポソームや 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が進められている。その一例が、前述の Nabel らによって施行された悪性黒色腫に対する正電荷リポソームを用いた遺伝子治療臨床研究である³⁴⁾。また既述のように、シンガポール大学の Hui らは皮膚転移巣内へ 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³³⁾。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⁴¹⁾、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⁴²⁾。

本臨床研究の共同研究者である名古屋大学の吉田と八木らは、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。この multilamellar vesicle (MLV) は DNA が表面に結合する unilamellar vesicles とは異なり、DNA の多くは胞内に包埋されるという特徴を有する。彼らは名古屋大学医学部附属病院において、このリポソームに pDRSV-IFN β を包埋した遺伝子製剤 IAB-1 を clinical grade の製剤として生産、調製

する体制を整えたうえで、旧文部省、旧厚生省の許可をえて 2000 年 4 月より悪性グリ
オーマに対する遺伝子治療臨床研究を開始した。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。さらに現在、
この製剤の凍結剤と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、第
3 例目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。

13. 研究者の略歴・研究業績

(1) 研究者の略歴

① 斎田俊明 信州大学医学部皮膚科学講座教授

1971 年 3 月 東京大学医学部卒業

1972 年 4 月 東京大学医学部皮膚科学講座・助手

1975 年 11 月 埼玉県立がんセンター皮膚科・医員

1980 年 10 月 東京大学医学部分院皮膚科・講師

1983 年 4 月 東京大学医学部分院皮膚科・助教授

1984 年 9 月 Harvard Medical School(Massachusetts General Hospital)に留学

1985 年 4 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助教授

1989 年 9 月 信州大学医学部皮膚科学講座・教授、現在に至る

② 松本和彦 信州大学医学部皮膚科学講座講師、名古屋大学大学院医学系研究科細胞 情報医学専攻脳神経病態制御学脳神経外科学分野非常勤講師

1982 年 3 月 信州大学医学部卒業

1982 年 5 月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1983 年 4 月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1986 年 4 月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長

1987 年 4 月 信州大学医学部皮膚科学教室・助手

1987 年 10 月 東京大学医科学研究所免疫研究部・客員研究生

1988 年 12 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手

1992 年 7 月 New York Medical College 微生物免疫学教室に留学

1994 年 10 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手

1994 年 12 月 信州大学医学部附属病院皮膚科・講師、現在に至る

2002 年 8 月 名古屋大学大学院医学系研究科細胞情報医学専攻脳神経病態制御学
脳神経外科学分野非常勤講師、現在に至る

③ 宇原 久 信州大学医学部皮膚科学講座講師

1986 年 3 月 北海道大学医学部卒業

1986 年 6 月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1987 年 10 月 信州大学医学部附属病院・助手

1988 年 9 月 名戸ヶ谷病院皮膚科、国立がんセンター研究所病理部・研究員

1990 年 2 月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長

1991 年 2 月 信州大学医学部皮膚科学講座・助手

1997年11月 信州大学医学部皮膚科学講座・講師、現在に至る

④久保仁美 信州大学医学部皮膚科学講座助手

1988年3月 信州大学医学部卒業

1988年6月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1990年5月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1990年7月 長野赤十字病院皮膚科・医員

1991年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1992年4月 東京大学医科学研究所・客員研究生

1994年9月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手、現在に至る

⑤村田 浩 信州大学医学部皮膚科学講座助手

1991年3月 信州大学医学部卒業

1991年6月 信州大学医学部皮膚科学講座・研修医

1992年6月 長野赤十字病院皮膚科・医員

1993年6月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員

1993年10月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1994年4月 University of Miami School of Medicine 皮膚科に留学

1996年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手

1996年8月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員

1999年7月 諏訪赤十字病院皮膚科・医長

2000年7月 信州大学医学部附属病院皮膚科・医員

2001年4月 信州大学医学部附属病院皮膚科・助手、現在に至る

⑥吉田 純 名古屋大学大学院医学系研究科脳神経外科学分野・教授

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研究科脳神経外科学分野・教授、現在に至る

⑦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・助教授

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医科遺伝子治療学分野・助教授、現在に至る

⑧影下登志郎 熊本大学医学部皮膚科学講座助教授
 1977年 3月 川崎医科大学卒業
 1977年 5月 熊本大学医学部皮膚科学講座・研修医
 1979年 5月 熊本大学医学部皮膚科学講座・医員
 1982年 3月 熊本大学医学部附属病院皮膚科・助手
 1984年 7月 国立がんセンター病院皮膚科・研究員
 1986年 4月 New York Medical College 微生物免疫学教室に留学
 1988年 8月 熊本大学医学部附属病院皮膚科・講師
 2001年 2月 熊本大学医学部皮膚科学講座・助教授、現在に至る

(2) 研究業績

①斎田俊明 信州大学医学部皮膚科学講座教授

1. Yamato T, Handa S, Yamakawa T, Saida T, Ikeda S. The urinary glycosaminoglycans in pachydermoperiostosis. *Jpn J Exp Med* 44, 19-24, 1974
2. Matsuda M, Saida T, Hasegawa R. Cryofibrinogen in the plasma of patients with skin ulcerative lesions on the legs: A complex of fibrinogen and cold insoluble globulin. *Thrombosis Res* 9, 541-552, 1976
3. Saida T, Ohara K, Hori Y, Tsuchiya S. Development of a malignant proliferating trichilemmal cyst in a patients with multiple trichilemmal cysts. *Dermatologica* 166, 203-208, 1983
4. Takubo K, kanda Y, Ishii M, Nonose N, Saida T, Fujita K, nakagawa H, Fujiwara M. Primary malignant melanoma of esophagus. *Hum Pathol* 14, 727-730, 1983
5. Saida T, Tsuchiya S. Spontaneous partial regression of primary malignant melanoma with death due to metastases. *Arch Dermatol* 120, 1494-1496, 1984
6. Uno A, Hori Y, Saida T, Seki Y, Ohara K, Kukita A: Lectin-binding sites and patterns of melanin-producing cells. In: Bagnara J, et al (eds): *Biological, Molecular and Clinical Aspects of Pigmentation*. University of Tokyo Press, Tokyo, 1985, pp.583-594
7. Uchiyama N, Shindo Y, Saida T. Perforating pilomatricoma. *J Cutan Pathol* 13, 312-318, 1986
8. Yamaji K, Matsui M, Saida T. Increased densities of Langerhans cells in the epidermis of skin tumor. *J Dermatol* 14, 20-24, 1987
9. Nakarai H, Saida T, Shibata Y, Irie RF, Kano K. Expression of heterophile Paul-Bunnell and Hanganutziu-Deicher antigens on human melanoma cell lines. *Int Archs Allergy Appl*

Immunol 83, 160-166, 1987

10. Saida T, Uno A. Clonal variation in expression of p97 antigen in human melanoma cell lines detected by mixed passive hemagglutination. *J Dermatol* 14, 201-206, 1987

11. Saida T, Uno A, Hori Y. Detection of melanoma-associated antigen p97 in human malignant melanoma cell lines by immunoelectron microscopy. In: Kano K, et al (eds): *Cellular, Molecular and Genetic Approaches to Immunodiagnosis and Immunotherapy*, University of Tokyo Press, Tokyo, 1987, pp.407-411

12. Saida T, Iwata M. "Ectopic" extramammary Paget's disease affecting the lower aspect of the chest. *J Am Acad Dermatol* 17, 910-913, 1987

13. Yamaji K, Haniuda K, Shindo Y, Saida T. Squamous cell carcinoma developing in thermal keratosis. *J Dermatol* 15, 180-183, 1988

14. Kawachi S, Saida T, Uhara H, Uemura K, Taketomi T, Kano K. Heterophile Hanganutziu-Deicher antigen in ganglioside fractions of human melanoma tissues. *Int Archs Allergy Appl Immunol* 85, 381-383, 1988

15. Saida T, Uhara H, Mikoshiba H. Phytohemagglutinin-binding sites in the skin: A useful histochemical marker of acrosyringium and distal portions of intradermal sweat ducts. *Dermatologica* 179, 25-28, 1989

16. Saida T. malignant melanoma in situ on the sole of the foot: Its clinical and histopathologic characteristics. *Am J Dermatopathol* 11, 124-130, 1989

17. Ikegawa S, Saida T, Obayashi H, Sasaki A, Esumi H, Ikeda S, Kiyohara Y, Hayasaka K, Ishihara K. Cisplatin combination chemotherapy in squamous cell carcinoma and adnoid cystic carcinoma of the skin. *J Dermatol* 16, 227-230, 1989

18. Saida T, Oshima Y. Clinical and histopathologic characteristics of early lesions of subungual malignant melanoma. *Cancer* 63, 556-560, 1989

19. Saida T, Okabe Y, Uhara H. Bowen's disease with invasive carcinoma showing sweat gland differentiation. *J Cutan Pathol* 16, 222-226, 1989

20. Shindo Y, Akiyama J, Tamaji K, Ishihara Y, Saida T, Takase Y. Establishment of a human dermatofibrosarcoma protuberans cell line: Cytological characteristics. *J Dermatol* 16, 355-360, 1989

21. Ikegawa S, Saida T, Takizawa Y, Tokuda Y, Ito K, Fujioka F, Sakaki Y, Uchida N, Arase S, Takeda K. Vimentin-positive squamous cell carcinoma arising in a burn scar: A highly malignant neoplasm composed of acantholytic round keratinocytes. *Arch Dermatol* 125, 1672-1676, 1989

22. Uhara H, Saito Y, Mukai K, Akao I, Furuya S, Hoshikawa T, Shimosato Y, Saida T. Detection of Epstein-Barr virus DNA in Reed-Sternberg cells of Hodgkin's disease using the polymerase chain reaction and in situ hybridization. *Jpn J Cancer Res* 81, 272-278, 1990

23. Saida T, Ikegawa S, Takizawa Y, Kawachi S. Immunohistochemical detection of heterophile Hanganutziu-Deicher antigen in human malignant melanoma. *Arch Dermatol Res* 282, 179-182, 1990

24. Saida T, Yoshida N, Ikegawa S, Ishihara K, Nakajima T. Clinical guidelines for the early detection of plantar malignant melanoma. *J Am Acad Dermatol* 23, 37-40, 1990

25. Saida T, Yoshida N. Guidelines for histopathologic diagnosis of plantar malignant melanoma: Two-dimensional coordination of maximum diameter of lesions and degrees of intraepidermal proliferation of melanocytes. *Dermatologica* 181, 112-116, 1990
26. Ikegawa S, Saida T, Ikeda S, Nakajima T, Ishihara K. Immunohistochemical studies of blood group antigens ABH in cutaneous angiosarcoma. *Am J Dermatopathol* 14, 100-106, 1992
27. Ishihara Y, Matsumoto K, Kawachi S, Saida T. Detection of early lesions of "ungual" malignant melanoma. *Int J Dermatol* 32, 44-47, 1992
28. Kawachi S, Saida T. Analysis of the expression of Hanganutziu-Deicher antigen in human malignant melanoma. *J Dermatol* 19, 827-830, 1992
29. Saida T, Dohi S, Sadaki M, Tokuda Y, Ikegawa S, Takasaki Y. Distribution patterns and frequency of proliferating cells in cutaneous keratinocytic neoplasms. *J Am Acad Dermatol* 26, 744-748, 1992
30. Tokuda T, Mukai K, Matsuno Y, Furuya S, Shimosato Y, Takasaki Y, Saida T, Ishihara K. Proliferating activity of cutaneous melanocytic neoplasms defined by a proliferating cell nuclear antigen labelling index. *Arch Dermatol Res* 284, 319-323, 1992
31. Matsumoto K, Kubo H, Saida T, Kobayashi H, Kitano K, Saito H, Matsui M. Lethal posttransfusion graft-versus-host disease. *Dermatology* 187, 38-41, 1993
32. Saida T, Ishihara Y, Tokuda Y. Effective detection of plantar malignant melanoma. *Int J Dermatol* 32, 722-725, 1993
33. Kubo M, Ohno S, Kato M, Isemura M, Tagami H, Saida T. Immunoelectron microscopic localization of fibronectin in cultured human keratinocytes. *Arch Dermatol Res* 286, 448-454, 1994
34. Saida T. The concept of de novo origin of cutaneous malignant melanoma. *Eur J Dermatol* 4, 252-254, 1994
35. Tokuda Y, Saida T, Mukai K, Takasaki Y. Growth dynamics of acquired melanocytic nevi: Higher reactivity of proliferating cell nuclear antigen in junctional and compound nevi than intradermal nevi. *J Am Acad Dermatol* 31, 220-224, 1994
36. Uhara H, Saida T, Ikegawa S, Yamazaki Y, Mikoshiba H, Nijoh S, Kitano K, Koh C-S. Primary cutaneous plasmacytosis: Report of 3 cases and review of the literature. *Dermatology* 189, 251-255, 1994
37. Nakura J, Wijsman EM, Miki T, Kamino K, Yu CE, Oshima J, Fukuchi K, Weber JL, Piussan C, Melaragno MI, Epstein CJ, Scappaticci S, Fraccaro M, Matsumura T, Murano S, Yoshida S, Fujiwara Y, Saida T, Ogihara T, Martin GM, Schlessenber GD. Homozygous mapping of the Werner syndrome locus (WRN). *Genomics* 23, 600-608, 1994
38. Saida T, Oguchi S, Ishihara Y. In vivo observation of magnified features of pigmented lesions on volar skin using videomicroscope. *Arch Dermatol* 131, 298-304, 1995
39. Takizawa Y, Saida T, Tokuda Y, Dohi S, Ikegawa S, Ueyama Y. Engraftment of precursor lesions of human cutaneous neoplasms onto C.B-17 SCID mice: A useful in vivo experimental model of carcinogenesis in human skin. *Arch Dermatol Res* 287, 237-247, 1995
40. Uhara H, Wang YL, Matsumoto S, Kawachi S, Saida T. Expression of subunit of guanine

- nucleotide-binding protein Go in Merkel cell carcinoma. *J Cutan Pathol* 22, 146-148, 1995
41. Ichikawa T, Saiki M, Kaneko M, Saida T. Squamous cell carcinoma arising in a verrucous epidermal nevus. *Dermatology* 193, 135-138, 1996
 42. Kubo H, Abe J, Obata F, Nakajima H, Tunoda M, Ogawa A, Nakayama S, Beck Y, Kohsaka T, Darrow TL, Abdel-Wahab Z, Saida T, Takiguchi M. Dual recognition of a human cytotoxic T-cell clone for melanoma antigens. *Cancer Res* 56, 2368-2374, 1996
 43. Kuroda T, Kusama J, Iijima K, Kaneko G, Fujimori Y, Saida T. Primary malignant melanoma of the rectum. *J Gastroenterol* 31, 437-440, 1996
 44. Goddard KAB, Yu C-E, Oshima J, Miki T, Nakura J, Piussan C, Martin GM, Schellenberg GD, Wijsman EM, Saida T, members of the International Werner's Syndrome Collaborative Group. Toward localization of the Werner syndrome gene by linkage disequilibrium and ancestral haplotyping: Lessons learned from analysis of 35 chromosome 8p11.1-21 markers. *Am J Hum Genet*, 58, 1286-1302, 1996
 45. Saida T. relationship between mole and malignant melanoma. *Asian Med J* 39, 645-651, 1996
 46. Shimizu H, Takizawa Y, Mcgrath JA, Pulkkinen L, Christiano AM, Uitto J, Burgeson RE, Iwatsuki K, Niimi N, Noguchi M, Imayama S, Abe Y, Shirakawa Y, Hagiwara S, Saida T, Ogawa H, Hashimoto I, Nishikawa T. Absence of R42X and R635X mutations in the LAMB3 gene in 12 Japanese patients with junctional epidermolysis bullosa. *Arch Dermatol Res* 289, 174-176, 1996
 47. Wang Y-L, Uhara H, Yamazaki Y, Nikaido T, Saida T. Immunohistochemical detection of CDK4 and p16 proteins in cutaneous malignant melanoma. *Br J Dermatol* 134, 269-275, 1996
 48. Matsumoto K, Saida T, Ferrone S. Human HMW-MAA mimicry anti-id mAb MK2-23 immunogenicity in syngeneic hosts of F(ab') fragments and chimeric antibody. In: Hori Y, et al (eds): *Melanogenesis and Malignant Melanoma: Biochemistry, Cell Biology, Molecular Biology, Pathophysiology, Diagnosis and Treatment*, Elsevier, Amsterdam, 1996, pp.111-118
 49. Ichikawa T, Saiki M, Tokunaga S, Saida T. *Scedosporium apiospermum* skin infection in a patient with nephrotic syndrome. *Acta Derm Venereol* 77: 172-173
 50. Saida T. Acral melanoma in association with melanocytic naevus. *Melanoma Res* 7, 78, 1997
 51. Takizawa Y, Saida T, Tokuda Y, Dohi S, Wang YL, Urano K, Hioki K, Ueyama Y. New immunodeficient (nude-scid, beige-scid) mice as excellent recipients of human skin grafts containing intraepidermal neoplasms. *Arch Dermatol Res* 289, 213-218, 1997
 52. Yu CE, Oshima J, Wijsman EM, Nakura J, Miki T, Piussan C, Matthews S, Fu YH, Mulligan J, Martin GM, Schellenberg GD, Saida T, Werner's Syndrome Collaborative Group. Mutations in the consensus helicase domains of the Werner's syndrome gene. *Am J Hum Genet* 60, 330-341, 1997
 53. Ichikawa T, Masumoto J, Kaneko M, Saida T, Sagara J, Taniguchi S. Moesin and CD44 expression in cutaneous melanocytic tumours. *Br J Dermatol* 138: 763-768, 1998
 54. Ichikawa T, Masumoto J, Kaneko M, Saida T, Sagara J, Taniguchi S. Expression of moesin and its associated molecule CD44 in epithelial skin tumors. *J Cutan Pathol* 25, 237-243, 1998

55. Oguchi S, Saida T, Koganehira Y, Ohkubo S, Ishihara Y, Kawachi S. Characteristic epiluminescent microscopic features of early malignant melanoma on glabrous skin: A videomicroscopic study. *Arch Dermatol* 134: 563-568, 1998
56. Shimizu H, Takizawa, Y, Pulkkinen L, Zone JJ, Matsumoto K, Saida T, Uitto J, Nishikawa T. The 97 kD linear IgA bullous dermatosis antigen is not expressed in a patients with generalized atrophic benign epidermolysis bullosa with a novel homozygous G258X mutation in COL17A1. *J Invest Dermatol* 111:887-892, 1998
57. Tokuda Y, Amagai M, Taoita H, kawachi S, Ito T, Matsuyama I, Tsuchiya S, Saida T. A case of an inflammatory variant of epidermolysis bullosa acquisita: Chronic bullous dermatosis associated with non-scarring blisters and circulating IgG anti-type VII collagen antibody. *Dermatology* 197, 58-61, 1998
58. Fukuzawa M, Saida T. Pseudoaneurysm of the superficial temporal artery. *Acta Derm Venereol* 80, 65-66, 1999
59. Hayashi K, Kaneko H, Kawachi S, Saida T. Allergic contact dermatitis and osteomyelitis due to sternal stainless steel wire. *Contact Dermatitis* 41, 115, 1999
60. Ichikawa T, Itano N, Sawai T, Kimata K, Koganehira Y, Saida T, Taniguchi S. Increased synthesis of hyaluronate enhances motility of human melanoma cells. *J Invest Dermatol* 113, 935-939, 1999
61. Inagi R, Okuno T, Ito M, Chen J, Mori Y, Haque M, Zou P, Yagi H, Kiniwa S, Saida T, Yamanishi K. Identification and characterization of human herpesvirus 8 open reading frame K9 viral interferon regulatory factor by a monoclonal antibody. *J Hum Virol* 2, 63-71, 1999
62. Saida T. Histogenesis of malignant melanoma and its early detection. *Asian Med J* 42, 34-40, 1999
63. Saida T, Oguchi S. Usefulness of epiluminiscence microscopy in the diagnosis of pigmented lesions on the sole: an analysis using a videomicroscope. In: Dyal-Smith D, et al (eds): *Dermatology at the Millennium*, Parthenon Publishing, London, 1999, pp.543-545
64. Saida T: malignant melanoma on the sole: how to detect the early lesions efficiently. *Pigment Cell Res* 13(suppl 8):135-139, 2000
65. Cascinelli N, Herlyn M, Schneeberger A, Muwert C, Slominski A, Armstrong C, Belli F, Lukiewicz S, Maurer D, Ansel J. Saida T. What is the most promising strategy for the treatment of metastasizing melanoma? *Exp Dermatol* 9:439-451, 2000
66. Saida T: Malignant skin neoplasms affecting aged persons: importance of its early detection. *Asian Med J* 43:390-397, 2000
67. Kubo H, Matsumoto K, Saida T, et al: Sequential chemoimmunotherapy with cisplatin, IFN- β and IL-2 inhibits the growth of B16-F1 melanoma in syngeneic mice. *Melanoma Res* 10:223-229, 2000
68. Kageshita T, Mizuno M, Ono T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Growth inhibition of human malignant melanoma transfected with the human IFN- β gene by means of cationic liposomes. *Melanoma Res* 11, 337-342, 2001
69. Saida T. Recent advances in melanoma research. *J Dermatol Sci* 24, 1-13, 2001

70. Ishihara K, Saida T, Yamamoto A. Updated statistical data of malignant melanoma in Japan. *Int J Clin Oncol* 6, 109-116, 2001
71. 斎田俊明. メラノーマの診断・治療の最新情報. *日皮会誌* 110, 1267-1275, 2001
72. Sakurai A, Ikeo Y, Saida T, Hashizume K. Frequency of facial angiofibromas in Japanese patients with multiple endocrine neoplasia type 1. *Endocr J* 47, 569-573, 2000
73. Kageshita T, Hamby CV, Ishihara T, Matsumoto K, Saida T, Ono T. Loss of β -catenin expression associated with disease progression in malignant melanoma. *Br J Dermatol* 145, 210-216, 2001
74. Ueyama Y, Saida T, Inokuchi S. (ed). *Human Skin and Hair in Immunodeficient Mice*. Central Institute for Experimental Animals, Kawasaki, 2001
75. Dohi S, Saida T, Takizawa Y, Tokuda Y, Wang Y-L, Urano K, Hioki K, Yamamoto S, Ueyama Y. Xenotransplantation of human precancerous skin lesions on immunodeficient mice: An in vivo experimental model for cancer progression in humans. In: Ueyama T, Saida T, et al (eds): *Human Skin and Hair in Immunodeficient Mice*, Central Institute for Experimental Animals, Kawasaki, 2001, pp.29-40
76. Saida T, Yokuda Y, Ueyama Y. Application of human skin/immunodeficient mice system for studies of human normal and diseased skin. In: Ueyama T, Saida T, et al (eds): *Human Skin and Hair in Immunodeficient Mice*, Central Institute for Experimental Animals, Kawasaki, 2001, pp.45-52
77. 斎田俊明, 宇原 久. 悪性黒色腫に対する抗がん剤の適正使用ガイドライン(試案). *Skin Cancer* 16, 158-169, 2001
78. Kaniwa Y, Fujita T, Akada M, Itoh K, Shofuda T, Suzuki Y, Yamamoto A, Saida T, Kawakami Y. Tumor antigens isolated from a patient with vitiligo and T-cell-infiltrated melanoma. *Cancer Res* 61, 7900-7907, 2001
79. Wakamatsu K, Kageshita T, Furue M, Hatta Y, Kiyohara Y, Nakayama J, Ono T, Saida T, Takata T, Tsuchida T, Uhara H, Yamamoto A, Yamazaki N, Naito A, Ito S. Evaluation of 5-S-cysteinyl-dopa as a marker of melanoma progression: 10 years' experience. *Melanoma Res* 12, 245-253, 2002
80. Hayashi K, Okubo S, Watanabe T, Yamazaki Y, Horiuchi N, Saida T. Malignant melanoma on the sole showing prominent neural differentiation. *Int J Dermatol* 41, 247-249, 2002
81. Saida T, Oguchi S, Miyazaki A. Dermoscopy for acral pigmented lesions. *Clin Dermatol* 20, 279-285, 2002
82. Uhara H, Saida T, Watanabe T, Takizawa Y. Lymphangitis of the foot: Lymphatic drainage of the sole. *J Am Acad Dermatol* 46, 2002 (in press)
83. Nobayashi M, Mizuno M, Kageshita T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Repeated cationic liposome-mediated gene transfer enhanced transduction efficiency against murine melanoma cell lines. *J Dermatol Sci* 29, 206-213, 2002
84. Ryuke Y, Mizuno M, Natsume A, Suzuki O, Nobayashi M, Kageshita T, Matsumoto K, Saida T, Yoshida J. Growth inhibition of subcutaneous mouse melanoma and induction of natural killer cells by liposome-mediated interferon-beta gene therapy. *Melanoma Res* 13:2003