

研究の区分	遺伝子治療臨床研究
研究の目的	<p>ヒト顆粒球マクロファージコロニー刺激因子（以下 hGM-CSF と略する）は 124 個のアミノ酸から構成される糖タンパク質であり、骨髄系前駆細胞の増殖・分化を促進する作用を有するため、ヒトに投与すると好中球、好酸球、単球数を増加させ、それらの機能を活性化する。また他のサイトカインとも共同し、赤血球系、血小板系造血も刺激する。一方 hGM-CSF には、抗原提示細胞、とくに樹状細胞に作用して、その抗原提示能を増強し、最終的には CD8+細胞障害性 T 細胞を介して宿主の抗腫瘍免疫能を増強する作用もあることが報告されており、最近注目されている。本遺伝子治療臨床研究では、hGM-CSF のこの作用に着目し、IV 期腎細胞がん患者に hGM-CSF 遺伝子導入自己複製能喪失自家腎細胞がん細胞を皮内接種する。これにより、hGM-CSF 遺伝子導入自家腎細胞がん細胞接種局所の反応ならびに全身における毒性と、遺伝子導入に用いたレトロウイルスベクターの安全性の評価を行う。さらに本治療法の効果についても、評価・検討する計画をたてた。特に抗腫瘍効果については、臨床的に腫瘍縮小効果を検討することはもちろんのこと、さらに免疫学的研究方法を多く取り入れ、患者体内で誘導される可能性のある抗腫瘍免疫反応を詳細に解析する予定である。これにより将来的に遺伝子治療法を機軸にした、より効果的な腫瘍免疫療法への足掛かりを得ることを期待している。また患者自家腎細胞がん細胞の大量培養ならびに遺伝子導入を本附属病院内臨床細胞工学室にて行うことで、本邦における ex vivo 遺伝子治療の本格的実施に向けての基盤を作ることも目的の 1 つである。</p>
対象疾患	第 IV 期腎細胞がん
実施方法	<p>1) 患者の選択 候補患者に対しては、規定の説明および同意書を用いて本臨床研究についての説明を少なくとも 2 回行った。その段階で患者が本臨床研究への参加を強く希望した場合、東大医科研附属病院・遺伝子治療臨床検討会を開催し、患者の病状が、本臨床研究に参加する上での適応基準を満たし除外基準を満たさないことについて、臨床的観点より検討した。適応症例である可能性が高いと判断された場合にのみ、患者からの文書による同意を取得し、最終的に東大医科研附属病院・遺伝子治療臨床研究審査委員会において、患者の遺伝子治療臨床研究への適応判定を行った。適応と判定された患者に対しては、遺伝子治療臨床研究第 1 段階への参加が認められた。</p> <p>2) 患者数と実施期間 当初、患者計 5 名に対して遺伝子治療臨床研究第 2 段階として、GM-CSF 遺伝子導入放射線照射自家腎癌細胞の作製と 1.4×10^8 個 (4×10^7 個 x1 回、2×10^7 個 x5 回) 細胞の皮内接種を予定した。研究期間は、厚生省ならびに文部省の承認が得られてから全ての患者への腫瘍細胞接種が終わるまでの約 2 年間で当初予定したが、実際には約 3 年間で要した。最終的には患者計 6 名の GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞を作製し、全例で安全性（細菌、真菌、マイコプラズマ、エンドトキシンならびに複製可能レトロウイルスが検出されないこと）が確認された。その内 4 名の GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞より規定量以上 ($>40\text{ng}/10^6$ 細胞/24 時間) の GM-CSF 産生を確認できたため、4 名の患者への皮内接種を行った。</p>

	<p>3) 臨床研究計画</p> <p>第1段階(遺伝子導入腎細胞がん細胞製造)：東大医科研附属病院遺伝子治療臨床研究審査委員会において、本遺伝子治療臨床研究の適応症例と判定された患者に対して、腫瘍側腎臓全摘出を行った。手術で摘出した腎癌組織を、同日より東大医科研附属病院臨床細胞工学室内で培養、MFG-S レトロウイルスベクターを用いて hGM-CSFcDNA を導入し、さらに大量培養を行った。これらの遺伝子導入腎癌細胞は、150 グレイの放射線照射後、凍結・保存した。遺伝子導入腎癌細胞の安全性確認は、米国の専門会社(BioReliance 社 (一部英国支社を利用)) に依頼して行った。同社にて安全性検査の実施中に、東大医科研分子療法研究分野に於いて、遺伝子導入自家腎癌細胞からの GM-CSF 産生量を ELISA 法を用いて測定した。</p> <p>第2段階(遺伝子導入腎細胞がん細胞接種)：上記の放射線照射 GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞が得られ、その安全性ならびに GM-CSF 産生量が遺伝子治療臨床研究適応判定の為の基準を満たすことが確認された段階で、東大医科研附属病院・遺伝子治療臨床検討会を再度開催し、臨床的な適応について検討した。接種開始に対する患者の意志に変化がなく、臨床的にも接種可能な状態と判断された場合、患者より2度目の文書による同意を取得した。最終的には東大医科研附属病院・遺伝子治療臨床研究審査委員会において、患者への接種開始に関する適応判定がなされた。適応と判定された患者に対してのみ、GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞を、14日毎、6回にわたり皮内に接種した。GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞に残余分があり、患者が追加接種を希望し、患者への継続接種が医療的に患者に対して有益と判断された場合には、東大医科研附属病院遺伝子治療審査委員会の了承を得た後、同様の方法で追加接種を行った。接種後は患者に出現する可能性のある急性ならびに慢性毒性に関して、血液および尿検査ならびに画像検査等で定期的にモニターすると共に、抗腫瘍免疫誘導効果ならびに臨床的効果に関しては、免疫学および病理学的検査、ならびに画像検査を用いて詳細にモニターを行った。</p> <p>第3段階(長期観察)：接種後、晩発性の免疫学的反応、抗腫瘍効果や副作用については、患者の生存期間中は米国がん研究所の一般毒性評価基準に従い定期的に観察および評価し、もし原疾患の増悪を認めた場合は、医学的に妥当と思われる補助療法があれば患者の希望に基づいてそれを行った。</p>
<p>研究結果の概要 及び考察</p>	<p>平成10年8月10日に本遺伝子治療臨床研究実施についての公的承認を得た後、平成13年7月まで、第IV期腎癌患者6症例において GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞の作製を行った。以下に、遺伝子治療臨床研究第1段階の対象となった6症例に関する略病歴と、GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞作製結果について記す。</p> <p>I. 遺伝子治療臨床研究第1段階結果</p> <p>1) 60歳、男性 (筑波大学医学部附属病院より紹介)</p> <p>平成10年6月より血尿、腰痛を自覚し始め、同年8月に右腎細胞がん、多発性肺、肝転移と診断された。PS (performance status) は0-1であり、同年9月29日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同年10月5日に右腎臓全摘出を行い、腎癌細胞培養を開始した。同年10月20日に規定量以上の GM-CSF を産生する GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞を得た。同細胞の安全性(細菌、真菌、マイコプラズマ、エンドトキシン、複製可能レトロウイルスの混入が無いこと)</p>

が確認され、患者の2回目の同意が得られたため、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た後、同年12月10日よりGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞接種を開始した。

2) 71歳、男性 (国立がんセンターより紹介)

平成10年9月頃より、右脚のしびれ、右大腿部の疼痛を自覚し始め、同年12月に右腎癌、仙骨転移と診断された。疼痛コントロール目的で平成11年2月1日より2月22日までに30Gyの放射線照射を仙骨局所に対して行ったが改善なく、2月18日より硬膜外カテーテルならびに経口にてモルヒネの投与を行い、疼痛をコントロールした。PSは0-1であり、同年4月5日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同4月6日に右腎臓全摘出を行い、腎癌細胞培養を開始した。同年4月19日に規定量以上のGM-CSFを産生するGM-CSF遺伝子導入腎癌細胞を得た。同細胞の安全性が確認され、患者の2回目の同意が得られたため、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た後、同年6月3日よりGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞接種を開始した。

3) 48歳、男性 (独協大学医学部・越谷病院より紹介)

平成11年4月頃より咳が出現し次第に増強し、同年6月に右腎癌、多発性肺・胸膜転移と診断された。PSは0-1であり、同年8月5日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同年8月17日に右腎摘出を行って腎癌細胞培養を開始し、同年9月6日にGM-CSF遺伝子導入腎癌細胞を得た。GM-CSF遺伝子導入細胞の安全性に問題はなかったものの、同細胞よりのGM-CSF産生量が規準を満たさなかった為、本患者は本遺伝子治療臨床研究第2段階への適応症例ではないとの判断が、同年9月17日に遺伝子治療臨床研究審査委員会によりなされた。

4) 57歳、女性 (国立がんセンターより紹介)

平成11年10月頃よりめまいを自覚し始めた。同年10月30日に左腎癌、多発性肝転移と診断された。PSは0であり、同年12月6日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同年12月9日に左腎摘出後腎癌細胞培養を開始し、同年12月27日に規定量以上のGM-CSFを産生するGM-CSF遺伝子導入腎癌細胞を得た。同細胞の安全性が確認され、患者の2回目の同意が得られたため、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た後、同年2月22日よりGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞接種を開始した。

5) 50歳、男性 (国立がんセンターより紹介)

平成11年11月頃より運動時の呼吸困難を自覚していたが放置、平成12年7月に胸部異常陰影を指摘され、精査にて左腎癌、多発性肺転移と診断された。PSは0であり、同年9月14日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同年9月20日に左腎摘出後腎癌細胞培養を開始し、同年10月25日に規定量以上のGM-CSFを産生するGM-CSF遺伝子導入腎癌細胞を得た。同細胞の安全性が確認され、患者の2回目の同意が得られたため、遺伝子治療臨床研究審査委員会の承認を得た後、同年12月13日よりGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞接種を開始した。

6) 58歳、男性 (山梨厚生病院より紹介)

平成12年9月頃より右肩に皮下腫瘍・疼痛が出現し近医を受診したが、抗炎

症剤のみで経過観察されていた。平成 13 年 2 月に疼痛悪化し、精査にて右腎癌、胸膜、骨、肝臓転移と診断された。PS は 0-1 であり、同年 5 月 10 日に遺伝子治療臨床研究審査委員会が開催され、本遺伝子治療臨床研究への適応患者との判断がなされた。同年 5 月 15 日に右腎摘出後腎癌細胞培養を開始し、同年 6 月 7 日に GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞を回収した。GM-CSF 遺伝子導入細胞の安全性に問題はなかったものの、同細胞よりの GM-CSF 産生量が規準を満たさなかった為、本患者は本遺伝子治療臨床研究第 2 段階への適応症例ではないとの判断が、同年 6 月 28 日に遺伝子治療臨床研究審査委員会によりなされた。

GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞を東大医科研病院細胞プロセスセンターに於いて作製した結果、6 症例の中で遺伝子導入細胞より規定量(>40ng/10⁶ 細胞/24 時間) 以上の GM-CSF 産生が確認された 4 症例に対しては、上述の如く遺伝子治療臨床研究第 2 段階として GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞(以下ワクチン細胞と省略)の皮内接種を開始し、以下の様な臨床経過を辿った。

II. 遺伝子治療臨床研究第 2 及び第 3 段階結果

A. 全症例臨床経過

1) (接種第 1 症例) 60 歳男性、右腎細胞癌、多発性肺転移、肝臓浸潤

平成 10 年 12 月 10 日に 4x10⁷ 個の GM-CSF 遺伝子導入細胞(以下ワクチン細胞と略)の皮内接種を行い、その後 2 週間毎に 2x10⁷ 個のワクチン細胞の皮内接種を 5 回、さらに 4 回の追加接種を平成 11 年 4 月 27 日まで行った(計 10 回、2.2x10⁸ 細胞)。この間患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。下記のごとく、接種後より DTH 反応(培養自家腎癌細胞の皮内接種に対する遅延性皮膚反応)は陽性化し、患者末梢血リンパ球解析ならびに病理組織検査結果も、接種により抗腫瘍免疫が誘導されたことを強く示唆する結果であった。臨床的には、最大評価病変の右肺門部転移巣の増殖速度がワクチン細胞接種後に鈍化した。10 回接種後に MRI で大脳内に 1 cm 弱の腫瘍が 2 個発見され、腎癌の脳転移と診断されたため、それ以降の接種は行われなかった。同年 5 月 10 日に共同研究施設の筑波大学医学部附属病院に転院し、脳転移腫瘍部分への γ ナイフ治療を実施した。その後第 9 胸椎転移病巣による腰痛が出現し、放射線照射を行ったが、下肢対麻痺を来した。患者ならびに家族の強い希望により、同年 5 月 21 日より 7 月 7 日まで 70-140 万単位/日の低量 IL (インターロイキン)-2 の全身投与を行い、最大評価病変のサイズは 1 ヶ月後には約 30% 程度縮小したが、胸水貯留やその他の小転移巣数の増加及びサイズの増大を来し、患者は平成 11 年 7 月 8 日に腫瘍死された。家族の承諾が得られたために剖検を同日に実施した(筑波大学付属病院)。

主要病理解剖診断

腎細胞癌(右腎原発、右腎摘出後、手術標本組織型: 明細胞癌) GM-CSF 免疫遺伝子治療臨床研究後・放射線療法後、

剖検時転移巣組織型:

明細胞癌に加え顆粒細胞癌、紡錘細胞癌の組織型が混在

同上転移: 両肺(多発性)、肝、脾、十二指腸、左腎、胸膜、横隔膜、縦隔リンパ節、鎖骨下リンパ節、傍大動脈リンパ節、

副病理所見

1. 左腎代償性肥大、急性尿細管壊死、
2. 胃・十二指腸出血（腎細胞癌の十二指腸転移巣による）
3. 両側血性胸水（左 3000ml; 右 60ml）
4. 慢性甲状腺炎(30g)
5. 全身のうっ血傾向
6. 心マッサージ術後状態（肺骨髄塞栓）

病理医コメント

- ① 腫瘍免疫作動状態につき：多臓器に多数の腎癌転移結節を認めた。主な転移臓器である肺では、両肺ともにその約 1/2 が腫瘍組織に置換されており、最大の転移巣は右肺の肺門周囲にみられ、その大きさは 70x62mm であった。転移巣の組織型は、原発巣の明細胞癌に加え顆粒細胞癌、一部紡錘細胞癌に相当する像も混在していた。大部分の結節で巣状の壊死を観察した。右肺門部には、広範壊死に陥った結節がみられた。癌組織内へ浸潤するリンパ球はいずれの転移結節にても多数認めたが、広範壊死を示す結節では壊死巣の周囲に少数観察する程度であった。従って当該肺転移巣の広範壊死部分は必ずしも腫瘍免疫作動の帰結ではなく、循環障害など他の要因も推定しうる。免疫染色の結果、肺転移巣内浸潤リンパ球の大部分が CD3+T 細胞であった。腫瘍組織内、特に小壊死巣近傍では多数の CD8+T 細胞を観察した。肝右葉にも転移結節を認めた。組織学的には肺の転移巣と同様の組織型を示し一結節では比較的広範な壊死を伴っていた。この肝転移内にも、CD8+T 細胞を主体とするリンパ球浸潤を観察した。腫瘍内における CD4+T 細胞は少数であった。一方、転移巣周囲の正常組織にも CD3+T 細胞の浸潤を観察したが、肺・肝臓ともにその構成は CD4+T 細胞が優位であった。CD20+B 細胞は、腫瘍内・外ともに少数であった。これらの所見から、腫瘍組織内へ選択的に CD8+細胞障害性 T 細胞が誘導されたことが示唆される。
- ② 遺伝子治療に関する有害事象につき：腎には急性尿細管壊死を認めたが、これは死戦期変化と考えられる。血管炎等、今回の遺伝子治療に関連すると思われる形態学的変化はいずれの臓器にも認められなかった。多臓器にみられた腎細胞癌の転移巣の大部分では、わずかに壊死を認める程度で殆どの癌細胞が生存していたが、肺と肝に比較的広範囲の壊死を伴う結節を 1 個ずつ認めた。これらの細胞では、他の結節に比して CD8 陽性 T リンパ球の浸潤が目立った。ただし、この細胞浸潤は壊死による二次性変化の可能性もあり、遺伝子治療による真の効果と断定はできない。
- ③ 死因につき：腫瘍死と思われる

2) (接種第 2 症例) 71 歳男性、右腎細胞癌、仙骨転移

平成 11 年 6 月 3 日に 4×10^7 個のワクチン細胞の皮内接種を行い、その後 2 週間毎に 2×10^7 個の皮内接種を計 5 回、さらに 1 1 回の追加接種を平成 12 年 2 月 3 日まで行った（計 17 回、 3.7×10^8 細胞）。この間、患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。ワクチン細胞接種に伴い、タリウムシンチグラフィにて仙骨転移腫瘍部分へのタリウム取り込み量の低下を認めたほか、CT 検査でも同部位の造影効果の減少所見を認め、腫瘍血管増生の減少が示唆されたが、治療効果の判定は NC（不変）であった。また、ワクチン接種前には増加していた腫瘍マーカー IAP（inactivated acidic protein）が、6 回接種以降は正常化した。平成 12 年 5 月 11 日に順天堂大学病院・整形外科において仙骨転移部分の開

放生検を実施し、同部分の壊死を病理学的に確認した。なお下記のごとく、同生検部分への浸潤リンパ球は DTH 反応の際に認めたリンパ球と同一クローンであることが確認され、細胞障害性 T リンパ球の可能性が示唆された。患者においては、その後も無治療にて仙骨転移病巣は徐々に縮小傾向にあり、他臓器への新たな転移病巣の出現も認められず、さらには腫瘍マーカー (IAP:inactivated acidic protein)は正常レベルでその後も安定化した。平成 13 年 12 月迄 PS0 の状態で、経過観察していたが、同年 12 月に右大腿骨転移病変の出現を認めた為、局所放射線照射と低量インターロイキン-2 投与を開始した。その後 PS0 で東京大学医科学研究所附属病院 (東大医科研病院) 外来にて経過観察した。平成 17 年 1 月末頃より左腰痛が出現、MRI 等の画像検査結果から左坐骨/左寛骨部位への転移と診断し、同年 2 月 17 日から 3 月 10 日にかけて同部位に対して 30Gy の放射線照射を行った。同年 12 月には腰椎 (L1 から L4)の転移を認め、同年 12 月 7 日から 28 日に同部位に 30Gy の放射線照射を追加した。その後は腰痛等の症状は抗炎症剤の投与下にて軽快し、PS0 の安定した状態で外来通院ができていたが悪性腫瘍に伴う貧血 (Hb 9g/dl 程度) が出現した。平成 18 年 4 月より再度腰痛が出現したため、同部位に 30Gy の追加照射を行った。平成 19 年 10 月末頃より左頸部腫瘍の出現を認め、摘出標本病理検査結果から腎がん転移であることが判明し同年 12 月 7 日より局所への照射を計 42Gy 行った。その後、肺ならびに胸膜への腎がん転移病巣の増大とともに全身状態の悪化を認め、平成 19 年 12 月 26 日に東大医科研病院に入院された。入院後対症療法を行ったが、転移病巣は急速に増大し両側胸膜炎の悪化をきたし、平成 20 年 1 月 19 日午前 7 時 35 分に死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を 2 日後に実施した (東大医科研病院)。

主要病理解剖診断

腎細胞癌 (右腎原発、摘出後) GM-CSF 遺伝子腫瘍免疫活性化療法後、
組織型：明細胞癌主体、紡錘細胞癌部分も混在する
同上転移：両肺 (多発性)、両胸膜 (癌性胸膜炎)、横隔膜、胃壁、骨 (両側大腿骨、仙骨腰椎 L4) 同上リンパ節：左肺門、左頸部

副病理所見

1. 左頸部、両側大腿骨骨頭部放射線照射後状態
2. 下部消化管術後癒着状態、右腎、胆嚢摘出後状態
3. 両肺鬱血水腫 (肺重量 左 750g; 右 680g)、胸水 (黄色透明液 左 700ml; 右 1,200ml)
4. 脾臓萎縮 (30g)、副腎萎縮 (Lt 4.3g, Rt 4.5g)
5. 骨髄低形成骨髄
6. 開頭は許されず

病理医コメント

① 腫瘍免疫作動状態につき：全身性の広範な転移を認めるが、いずれの転移巣に於いても強い腫瘍壊死を認める。頸部リンパ節転移巣は瘢痕・硝子化するが、当該領域は放射線照射の効果と思われる。非放射線照射域での腫瘍組織の免疫組織化学的解析では、壊死領域近傍腫瘍組織内に比較的強いリンパ球浸潤を認め、その殆どが CD3+T 細胞より構成される。CD20+B 細胞は観察しない。CD4/CD8 の二重染色では、T細胞の殆どが CD8+T 細胞であり、CD4+T 細胞は少数であった。CD8/Ki-67 の二重染色では、細胞回転にある CD8+T 細胞は少数であった。これらの所見は、治療開始後の比較的長期生

存と併せ、意図した抗腫瘍免疫が誘導された証左であると思われる。

② 遺伝子治療に関する有害事象につき：剖検上、遺伝子治療に関連すると思われる有意な有害事象は同定し得なかった。

3) (接種第3症例) 57歳女性、左腎細胞癌、多発性肝転移、多発性肺転移ならびに対側腎転移

平成12年2月22日に 4×10^7 個のワクチン細胞の皮内接種を行い、その後2週間毎に 2×10^7 個の皮内接種を計5回、さらに9回の追加接種を同年9月19日まで行った(計15回、 3.2×10^8 細胞)。この間患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。肝転移病巣の総腫瘍量の増加速度は鈍化したものの次第に増加し、治療効果の判定はPD(進行)であった。ただし、肺ならびに腎臓の小転移病巣のサイズには殆ど変化がなかった。平成12年9月29日に東京大学医科学研究所附属病院を退院後、順天堂大学附属病院へ転院し、入院観察下IL-2、インターフェロン α の接種をそれぞれ検討したが、いずれも開始1週間目より肝機能異常が出現したため各投与を中止した。肝機能異常は投与中止にて改善したため、東大医科研附属病院と順天堂大学附属病院の両外来にて定期的に経過観察を行った。その後、肝転移病巣のサイズが徐々に増加したことから、本人の希望により民間病院にて活性化Tリンパ球療法を受けたが改善を認めず病勢は次第に進行し、東京大学医科学研究所附属病院に入院し、対症療法を実施されたが、平成15年11月2日に腫瘍の全身への転移のため死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を同日に実施した(東大医科研病院)。

主病理解剖診断

腎癌 淡明細胞癌 GM-CSF 遺伝子治療後(3年11ヶ月)

左腎原発(摘出後) 同上転移：肝、右腎、両肺、脾、脳(放射線照射後)
リンパ節(左肺門、右腎門、腹部大動脈周囲)

副病理病変

1. 多発性胃潰瘍+消化管出血
2. 漿膜炎(浸出性心外膜炎、胸膜炎、胸水(左300ml、右80ml))
3. 僧帽弁閉鎖不全および三尖弁閉鎖不全症、心肥大(430g、両房室拡大)
4. 急性尿細管壊死初期像
5. [高カルシウム血症(PTH-rP \uparrow Humoral hypercalcemia of malignancy, compatible)]
6. [麻痺性イレウス]

病理医コメント

① 腫瘍免疫誘導効果につき：腎癌の壊死・アポトーシスは殆ど検出できない。浸潤リンパ球はCD8 T cell 優位であるが、granzyme は発現しておらず、またKi-67でもラベルされない。過去に腫瘍免疫が作動した可能性は否定出来ないが、死亡時点でのactiveな抗腫瘍免疫の作動は観察しない。

② 副作用につき：自己免疫性腎炎を示唆する正常腎組織へのリンパ球浸潤、上皮の破壊像、糸球体の変化等は認めない。GM-CSF 静脈内投与の副作用として漿膜炎が惹起されたとの報告があるが(ref: Blood 83:2707-2714, 1994)、本例で観察された心外膜炎は① 静脈内投与と遺伝子発現ではその血中GM-CSF量に圧倒的な差をもって後者による発現量が低い点、② 組織像から比較的近い過去に発生した病変である(数ヶ月以内)ことが示唆され遺伝子療法実施期間と時間的隔りがある点、および③ 当該遺伝子療法を受けたいま一例の剖検

例では当該病変は検出されていない；の根拠により本遺伝子療法に関連した変化ではないと判定する。おそらく心不全に併発した変化であると推定する。

- ③ 死因につき：消化管出血（出血源は胃）を引き金とし循環血量の減少などの前腎性の影響により尿細管壊死（腎不全）が加わりあらかじめ存在した心不全と合併し複合的要因により死に至ったと思われる。癌性悪液質は背景にあるが直接死因ではないと思われる。脳転移は放射線照射によく反応している。
- ④ 筋力低下につき：それを説明する形態的变化は同定し得なかった。電解質異常に関連した症状と思われる。
- ⑤ 心につき：弁膜症による心拡大を認める。心不全としては肺鬱血よりは肝鬱血が前景に立つ。
- ⑥ 腸閉塞につき：腸閉塞はモルヒネによる麻痺性イレウスの可能性が高い。器質的閉塞は認めない。
- ⑦ 血小板減少につき：骨髄での巨核球産生はほぼ正常であった。末梢での破壊機序が示唆される。

4) (接種第4症例) 50歳男性、左腎細胞癌、多発性肺転移

平成12年12月13日に 4×10^7 個のワクチン細胞の皮内接種を行い、その後2週間毎に 2×10^7 個の皮内接種を計5回、平成13年2月20日まで行った（計6回、 1.4×10^8 細胞）。この間患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。6回接種後、同年2月26日に実施したCT検査において、右前側頭葉皮質に径1cm弱の腫瘍ならびに周辺浮腫像を認めた。本臨床研究の規定に従い、それ以降の追加接種は行わず、東京大学医学部附属病院放射線科において、同年3月15日に転移性脳腫瘍部位へのγナイフ治療を実施した。その後患者ならびに家族の希望により、同年5月7日より東大医科研附属病院にてIL-2、35-70万単位/日の全身投与を開始した。開始後約1ヶ月目より肺腫瘍量の減少を認めはじめ、約2ヶ月目には23%の縮小を認め、IL-2投与中止後の同年10月現在も約33%の減少状態が維持された。IL-2の投与開始時に一過性に脳浮腫の悪化による痙攣発作を認めたものの、脳腫瘍・浮腫の縮小化に伴いこれらの症状は全く認められなくなり、PS0-1の状態で入院観察中であったが、平成14年1月に脳腫瘍摘出を東京大学医学部附属病院で行った。平成14年夏頃から肺転移巣の徐々の増大を認め、平成16年7月には脳内に新たな転移巣を認めたため、同年8月にγナイフ治療を施行した。その後脳には新たな病変の出現は認められず、しばらくは外来にて低量IL-2の接種を継続し、PS0~1の状態を経過した。平成18年4月に右胸水貯留に伴う呼吸困難のため入院し、胸腔穿刺、廃液ならびに胸膜癒着術治療を施行した。胸椎への多発転移に伴う痛みのため、放射線治療も要した。肺の多発転移も増加、増大傾向にあり、高カルシウム血症も繰り返した。呼吸困難に対して在宅酸素療法（HOT）を導入し、平成18年8月11日に退院したが、同年10月より呼吸困難が増悪し、10月22日に再入院した。入院後、呼吸不全、貧血、疼痛及び高カルシウム血症等に対して対症療法を行ったが、呼吸不全は徐々に進行し、平成18年12月11日午後6時40分に死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を翌日に実施した（東大医科研病院）

主病理解剖診断

腎癌（左腎原発、明細胞癌）術後および免疫遺伝子治療（GM-CSF導入ワクチン

ン細胞 6 回接種、IL-2 投与) 後 6 年、同上浸潤転移：
両肺多発性転移巣形成、右肺下葉より連続性に横隔膜および肝への浸潤巣形成、下大静脈内浸潤を伴う、肝右葉下面から右副腎を巻き込み腹部大動脈周囲浸潤と進展する浸潤転移巣形成、右前頭葉転移、術後、放射線療法後（腫瘍残存認めず）

主要副病理所見

1. 高度うっ血肝・肝内胆汁鬱滞 (1,350g:下大静脈浸潤および肝外胆管圧迫による)
2. 脾腫 (720g 慢性うっ血脾 [脾機能亢進症])
3. 右胸膜癒着術後
4. 急性尿細管壊死
5. 慢性膵炎
6. 腹水 (黄色透明液 ; 2,600ml)

病理医コメント

- ① 汎血球減少症につき：骨髄は軽度過形成で 3 系統細胞に形態的異常を認めない。脾臓の形態所見と併せ脾機能亢進症による汎血球減少症と思われる。その背景要因としては腫瘍の下大静脈浸潤による慢性うっ血が示唆される。
- ② 腫瘍免疫誘導効果につき：剖検時の腫瘍組織は治療前に採取された手術標本に比し有意に増加する細胞死 (TUNEL 標識アポトーシス細胞) およびその体積の 50%以上の広範な壊死を認めた。
- ③ 腫瘍内浸潤リンパ球の免疫組織化学的解析につき：剖検時の腫瘍組織と手術標本との比較において・浸潤 CD3+T 細胞数・CD4/CD8 細胞比・Ki67 標識 CD8+T 細胞数 (CTL の指標)・CD25+細胞数(regulatory T 細胞の指標)の諸パラメーターにて有意な差は検出し得なかった。
- ④ 有害事象の有無につき：病理解剖検索において本遺伝子治療により惹起されたとと思われる有害事象は認めなかった。
- ⑤ 死因につき：腫瘍死と思われる。

B. 有害事象

すべての患者で GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞接種皮膚部分に発赤、腫脹、硬結ならびに搔痒感を認めた。これらの皮膚所見は約 2 週間には軽度の硬結を残すのみで、無処置にても自然に軽快した。接種第 4 症例に於いては、第 6 回目の接種約 48 時間後に同部位に水疱形成を認めたが、消毒と皮膚部分の保護により数日で軽快し、2 週間には軽度の硬結を残すのみの状態に改善した。全身性の副作用として、37 度台の発熱 (第 1 度副作用) を接種第 1 症例で第 7-9 回の接種時に、接種第 2 症例で第 1-4 回の接種時に認めたが、いずれも無処置にて 48 時間以内に解熱した。接種第 2 症例では、第 12 回の接種後、一過性にイレウス症状を来したが、2 日間の絶食にて軽快した。本件は腎摘出術に伴う腹膜癒着に由来する機械的イレウスによるものと診断した。なお本症状が治癒した後さらに 5 回の追加接種を実施したが、同症状の再発は認められなかった事実からも、本事象はワクチン接種との関連性はないものと判断した。その他、血液・生化学検査、尿検査等の一般臨床検査結果からは、ワクチン接種との関連性が示唆される異常所見は認められなかった。また、接種後に定期的に行われた患者末梢血中の複製可能レトロウイルス検査結果から、患者末梢血中にはワクチン接種直後を含め複製可能レトロウイルスは検出されなかった。

その後の長期的観察結果からも、本ワクチン接種は安全に実施されたものと判断された。

C. 免疫反応関連検査結果

(1) 血液・生化学検査等結果：

ワクチン細胞接種後に末梢血中の好酸球の増加が観察された。各例においてはそのピークが GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞接種後 48-96 時間後であった。その他腎機能、肝機能などへのワクチン細胞接種の影響は全く認められなかった。また、各種自己抗体の新たな出現も認められなかった。

(2) DTH (遅延性皮膚反応) 検査結果：

DTH 反応は、いずれの患者においてもワクチン細胞接種後より陽性(硬結サイズが 1cmx1cm 以上を陽性と定義)となった。接種第 1-4 症例とも、第 3 回目もしくは第 6 回目のワクチン接種後に培養自家腎癌細胞接種部位は陽性となり、その中でも接種第 1 症例における反応が最も顕著であった。各患者とも、ワクチン接種回数が多い場合に、培養自家正常腎細胞接種部位も陽性となったが、その反応の程度は、接種第 4 症例を除いては腎癌細胞接種部位と比較した場合には減弱していた。

(3) 病理組織検査：

ワクチン細胞接種部位：各患者間での相違はあるものの、第 3 回接種後までには CD4 陽性細胞優位の T 細胞浸潤と脱顆粒を伴う好酸球浸潤を認めた。接種第 3 症例では好酸球浸潤は少なかったが、単核球浸潤の程度は最も顕著であった。その後の細胞浸潤は、接種第 1,4 症例では減少し、接種第 2,3 症例では増加した。皮内 S100 陽性樹状細胞は特に接種第 1,4 症例で明らかに認められたが、接種第 2,3 症例では明らかではなかった。浸潤細胞の HLA-DR 発現は当初は低レベルであったが 30 日目には各患者で著明に増加していた。

DTH 反応部位：DTH 接種部位の浸潤細胞としては、CD4 陽性細胞が CD8 陽性細胞よりも優位であり、さらには CD68 陽性マクロファージの浸潤も顕著であった。好酸球浸潤も全例で認められたが、その程度は様々であった。浸潤細胞数は腎癌細胞接種部位で優位に多かったが、浸潤細胞の種類と比率は腎癌細胞接種部位とコントロール腎細胞接種部位との間に明らかな差は認められなかった。

腫瘍部位：接種第 1 症例においては、原発巣(手術摘出腎癌)、ワクチン細胞 10 回接種終了後に出現した皮膚転移病巣の生検標本、死亡後に剖検が許可されたことから、IL-2 使用後の転移腫瘍部分標本についての病理学的解析が可能であった。この結果、原発腎癌病巣では CD4 陽性細胞の浸潤が主体であった。皮膚転移病巣では CD8 陽性 T 細胞の浸潤を優位に認め、特にアポトーシスを起こしている部分の周辺には CD68 陽性マクロファージの浸潤も著明に認めた。なお好酸球の浸潤は、DTH 部位とは異なり明らかではなかった。

接種第 2 症例においては、ワクチン細胞 17 回接種終了後 3 ヶ月後に仙骨転移病巣の生検を行った。採取できた同部分の組織は全て壊死に陥っており、CD8 陽性 T 細胞の浸潤を顕著に認めた。

(4) T細胞レパトリー検査：

患者末梢血リンパ球の TCRV β CDR3 配列を検討した結果、接種第 1 症例の末梢血、DTH 部位、皮膚浸潤部位ならびに肺転移縮小部分に、共通な

オリゴクローン性Tリンパ球の浸潤・増生が認められた。接種第2症例でも、末梢血中にオリゴクローン性のTリンパ球増生を認め、これらの一部は仙骨部腫瘍生検部分にも優位に認められた。接種第3症例でも、接種後に末梢血中にオリゴクローン性のTリンパ球増殖を認め、これらのクローンは皮内反応部分ならびに術中の肝生検部分にも認められた。接種第4症例では、明らかなTリンパ球クローンの出現は検出されなかった。

(5) T細胞機能検査

全4例の患者末梢血リンパ球のCD3抗体もしくはIL-2への反応性がワクチン接種後に増加し、自家腎癌細胞障害(CTL)活性の出現も認めた。特に接種第2, 3症例では、培養自家腎癌細胞へのCTL活性を持つリンパ球が末梢血中に長期間存在することが確認された。接種第4症例でも、弱いながらもCTL活性はワクチン接種期間中増加傾向を認め、IL-2投与後もこの活性は維持された。接種第1症例では、CTL活性は腫瘍増大に従って低下する傾向を認めた。

III. 考察

本遺伝子治療臨床研究を終了するにあたり、これまでに得られた結果をもとに、本臨床研究に関して以下の重要な3点を結論としてあげた。

- (1) レトロウイルスベクターを用いて、臨床研究用のスケールで患者接種において短期的ならびに長期的安全性に問題のないGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンを作製することが出来た。しかし、規定以上のGM-CSF産生量を本ウイルスベクター導入によって確保することは必ずしも容易ではなく、その作製には長い時間と高い費用を要した。今後は、より簡便かつ安定した遺伝子導入細胞の作製法を導入・開発する必要がある。
- (2) GM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンの接種により、in vitroでの検査結果では患者への抗腫瘍特異的免疫誘導効果は検出されたものの、臨床効果としては腫瘍細胞量の多い患者への本療法のみでの腫瘍縮小効果には限界があることが示唆された。今後は腫瘍量が少なく、再燃までの期間が短いことが予想される腫瘍をもつ患者への使用や、手術後アジュバントとしての使用を臨床研究として考慮すべきであると考えられた。
- (3) 本臨床研究に参加した4名の患者さんにおいては、第1回目のワクチン接種後から、各々11ヶ月、8年7ヶ月、3年9ヶ月ならびに6年間生存されている。特に、2患者が6年以上生存されたことは、腫瘍縮小効果自体は明らかでないものの、第IV期腎癌患者の5年生存率が通常10%程度であることを考慮に入れると、本ワクチン接種が腫瘍増殖速度を遅延化させ生存期間延長に大きく寄与した可能性はあり、この観点からも今後(2)で記載した様な方法を検討していく必要があると考えられた。さらに、免疫遺伝子治療臨床研究の臨床効果の評価項目としては、他の免疫療法と同様に、従来の抗癌剤などに対する効果判定基準以外に、再燃までの期間延長効果や生存期間などの特別な評価基準を設ける必要があるものと考えられた。

IV. 今後の方針

上記のように、本遺伝子治療臨床研究は安全に実施され、科学的に評価可能な抗腫瘍免疫反応が患者体内に誘導されたことを確認できた。但し、上述のごとくGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンの作製は必ずしも容易ではなく、当初準備されたレトロウイルスベクターを全て使用し、6例の患者のGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞の作製を試み、4例でGM-CSF産生

	<p>量が基準を満たした。今回の我々の臨床研究結果をふまえ、現在センダイウイルスベクターを用いた GM-CSF 遺伝子導入同種腫瘍細胞を用いた新規樹状細胞療法等の新たな方法を準備中である。この方法を用いる利点としては以下の4点が挙げられる。すなわち、1) 接種局所で高 GM-CSF 濃度を確実に得られる、2) センダイウイルスベクターによる GM-CSF 遺伝子導入を行うため、レトロウイルスベクターを用いて ex vivo での遺伝子導入を行うことに伴う費用と時間が大きく節約できる、3) レトロウイルスベクターを用いる場合に比較し、安全性が高いと考えられる、4) 樹状細胞療法を併用するため、抗腫瘍免疫誘導能が高いと考えられる。</p> <p>無論、マウスを用いた前臨床動物実験では確認されてきているものの、本遺伝子治療臨床研究で検出できた様な抗腫瘍免疫が患者体内に安全に誘導できるか否かに関しては未知数であることから、新しい免疫遺伝子治療臨床研究を第 I-II 相研究として行っていく必要がある。但し、理論的に本方法は全ての種類の腫瘍患者に対しても用い得る汎用性の高い方法である為、本方法を用いた臨床研究に早期に移行し、その療法の可能性を検討していくことが、現段階での妥当な選択であると考えられる。</p>
研究成果の公表状況	<p>(関連研究結果の公表状況)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 第1回外科遺伝子治療研究会、平成11年3月25日(福岡)、<u>谷 憲三朗</u> 「腎癌の遺伝子治療」 2 第25回日本医学会総会、ランチョンセミナー、平成11年4月3日(東京) <u>谷 憲三朗</u> 「悪性腫瘍に対する遺伝子治療の現状」 3 <u>谷 憲三朗</u>他「腎がんに対する免疫遺伝子治療」第87回日本泌尿器科学会総会、シンポジウム4. 平成11年4月14日(大阪) 4 The Japan Society of Gene Therapy, 5th Annual Meeting、平成11年6月19日(東京) K.Tani et al. “Clinical Studies of Immunogene Therapy Using GVAX Autologous GM-CSF Transduced Tumor Vaccines for Stage IV Renal Cell Cancer. 5 日本ヒト細胞学会、シンポジウム I. 平成11年8月26日(鹿児島) <u>谷 憲三朗</u>他「腎癌に対する免疫遺伝子治療：実施までの経緯と現状報告」 6 日本がん治療学会、特別ワークショップ、平成11年10月14日(岐阜) <u>谷 憲三朗</u>他、「腎癌に対する遺伝子治療」 7 日本遺伝子診療学会主催、市民向けフォーラム、遺伝子診断と治療の今—21世紀の主役になれるか?—、<u>谷 憲三朗</u>、遺伝子治療：現実化への道のり、平成11年11月6日(東京) 8 Kawai, K., <u>Tani, K.</u>, Asano, S. and Akaza, H. Gene-modified immunotherapy for renal cell carcinoma. Contrib Nephrol 128: 75-81, 1999. 9 <u>Tani, K.</u>, Nakazaki, Y., Hase, H., Takahashi, K., Azuma, M., Ohata, J., Oiwa, M., Kitamura, R., Masunaga, A., Maekawa, T., Satoh, N., Adachi, D., Soda, Y., Watari, K., Tojo, A., Yamashita, N., Yoshikawa, H., Tomikawa, S., Eriguchi, M., Wakumoto, Y., Hanazawa, K., Shuin, T., Kawai, K., Hamada, H., Okumura, K., Akaza, H., Fujime, M., Clift, S., Ando, D., Sherwin, S., Mulligan, R., and Asano S. Progress reports on immune gene therapy for stage IV renal cell carcinoma using lethally irradiated GM-CSF transduced autologous renal cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 46 (Suppl) S73-S76, 2000 10 Hase, H., <u>Tani, K.</u>, Nagayama, H., Watari, K., Takahashi, S., Ooi, J., Shirafuji,

	<p>N., Izeki, T., Nakazaki, Y., Yamashita, T., Nakamura, T., Masunaga, A., Maekawa, T., Tojo, A. and Asano, S. . Case Report: The availability of TCR-V β repertoires analysis with RT-PCR methods for the early detection of pulmonary relapsed T-cell malignancy after the autologous stem cell transplantation. <i>Am J Hematol</i> 64: 124-127, 2000</p> <p>11 <u>Tani, K.</u>, Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S., et al. Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer. <i>Molecular Therapy</i> 1: S259, 2000.</p> <p>12 American Society of Gene Therapy: The 3rd Annual Meeting: June 3, 2000. Denver, Colorado <u>Tani, K.</u>, Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S. et al., Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer.</p> <p>13 The Japan Society of Gene Therapy: The 6th Annual Meeting: July 27, 2000. Tokyo <u>Tani, K.</u>, Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S. et al., Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer: Three cases report.</p> <p>14 <u>谷憲三朗</u>、東條有伸、山下直秀、増永敦子、佐藤典治、江里口正純、富川伸二、花澤喜三郎、濱田洋文、垣添忠生、藤目真、赤座英之、浅野茂隆。 GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞を用いた抗腫瘍免疫療法の解析：第 59 回日本癌学会総会 10 月, 2000.</p> <p>15 Wang, Z., Sumimoto, H., Tani, K., Kang, X., Nakazaki, Y., Asano, S. IL-12 synergizes with B7-1 enhance the antitumor immunity in C57BL/6 mice. <i>Int J Mod Cancer Therapy</i> 3: 51-53, 2000</p> <p>16 Tani K., Nakazaki Y., Hase H., Takahashi K., Monna M., Soda Y., Kitamura R., Machida U., Ohata J., Watari K., Oyaizu N., Satoh N., Tojo A., Yamashita N., Maekawa T., Eriguchi M., Tomikawa S., Hanazawa K., Wakumoto Y., Akaza H., Fujime M., Kakizoe T., Mulligan R., Clift S., Ando D., Sherwin S., Asano S. Case reports on clinical studies of immunogene therapy using autologous. <i>Molecular Therapy</i> 3(5):S76, 2001. American Society of Gene Therapy. May, 2001, Seattle, Washington.</p> <p>17 Tani K., Nakazaki Y., Hase H., Takahashi K., Monna M., Komine F., Kitamura R., Machida U., Ohata J., Soda Y., Watari K., Oyaizu N., Satoh N., Tojo A., Yamashita N., Maekawa T., Eriguchi M., Tomikawa S., Hanazawa K., Wakumoto Y., Kawai K., Azuma M., Kamada H., Okumura K., Kakizoe T., Akaza H., Fujime M., Mulligan R., Clift S., Ando D., Sherwin S., Asano S. Clonical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for IV renal cell cancer: progress report. The JAPAN Society of gene Therapy , The 7th Annual Meeting , July 5, 2001, Tokyo.</p> <p>18 谷 憲三朗、中崎有恒、東條有伸、小柳津直樹、富川伸二、和久本芳彰、河合弘二、東みゆき、垣添忠生、藤目真、赤座英之、浅野 茂隆。 GM-CSF 遺伝子導入自家がん細胞を用いた免疫遺伝子治療臨床研究経過報告 第 60 回日本癌学会総会 10 月. 2001 (横浜)</p> <p>19 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. (2002) Advanced renal cell carcinoma treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene therapy: a clinical</p>
--	---

	course of the first Japanese experience. <i>International Journal of Urology</i> . 9(8):462-6
20	Tani, K. Immunotherapy using GM-CSF gene for metastatic renal cell cancer. <i>International Symposium: Cancer Gene Therapy</i> . 213-223, 2002 (Eds)
21	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 granulocytemacrophage colony-stimulating factor gene therapy: A clinical course of the first Japanese experience. <i>Int. Journal of Urology</i> , 9:462-466, 2002
22	谷憲三朗、中崎有恒、長谷英徳、高橋圭介、曾田泰、大岩真希、前川平、東條有伸、山下直秀、佐藤典治、江里口正純、富川伸二、小柳津直樹、和久本芳彰、花澤喜三郎、河合弘二、東みゆき、濱田洋文、垣添忠生、奥村康、藤目真、赤座英之、Shirley Clift, Dale Ando, Stephan Shirwin, Richard Mulligan, 浅野茂隆 第IV期腎癌に対する免疫遺伝子治療臨床研究結果報告 日本泌尿器科学会、東京(2002.2.17)
23	Tani, K., Azuma, M., Nakazaki, Y., Oyaizu, N., Hase, H., Ohata, J., Takahashi, K., Oiwa Monna, M., Hanazawa, K., Wakumoto, Y., Kawai, K., Noguchi, M., Soda, Y., Kunisaki, R., Watari, K., Takahashi, S., Machida, U., Satoh, N., Tojo, A., Maekawa, T., Eriguchi, M., Tomikawa, S., Inoue, Y., Tahara, H., Inoue, Y., Yoshikawa, H., Yamada, Y., Iwamoto, A., Hamada, H., Yamashita, N., Okumura, K., Kakizoe, T., Akaza, H., Fujime, M., Clift, S., Ando, D., Mulligan, R., Asano, S. Phase I study of autologous tumor vaccines transduced with the GM-CSF gene in four patients with stage IV renal cell cancer in Japan. <i>Clinical and Immunological Findings. Mol Ther</i> . 10: 799-816, 2004.
24	谷憲三朗、橋口隆生、中崎有恒、東みゆき、浅野茂隆、GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞接種患者において誘導された腎癌細胞に対する抗腫瘍免疫の検討、第 63 回日本癌学会総会シンポジウム 30、福岡(2004.9.30)
25	Hashiguchi, T., Nakazaki, Y., Clift, S., Ando, D., Asano, S., Tani, K. Detection of enhanced serum antibody production to renal cell cancer proteins and identification of serological tumor antigens in patients treated with the GM-CSF gene transduced-autologous tumor vaccines. <i>Mol. Ther</i> 9:S 220, 2004.
26	Nakazaki, Y., Hase, H., Inoue, H., Beppu, Y., Meng Xin K, Sakaguchi, G., Ryo Kurita, R., Asano, S., Nakamura, Y., Tani, K. Serial analysis of gene expression in progressing and regressing mouse tumors implicates the involvement of RANTES and TARC in antitumor immune responses. <i>Mol Ther</i> 14: 599-606, 2006
27	Moon Y, Cho SG, Lee JW, Min WS, Kim CC, Lee HK, Kim YG, Chang HS, Chae HS, Kim HY, Tani K., Protective effect of irradiated renal carcinoma expressing hepatitis B surface antigen against renal-cell carcinoma-mediated tumors. <i>Cancer Biother Radiopharm</i> . 21:211-216, 2006.
28	Inoue, H., Iga, H., Nabeta, H., Yokoo, T., Suehiro, Y., Okano, S., Inoue, M., Kinoh, H., Katagiri, H., Takayama, K., Yonemitsu, Y., Hasegawa, M., Nakamura, Y., Nakanishi, Y., Tani, K. Non-transmissible SeV encoding GM-CSF is a novel and potent vector system to produce autologous tumor vaccines. <i>Cancer Science</i> 2008 (in press)

	<p>(申請中特許)</p> <p>1. 発明の名称：遺伝子治療用ウイルスベクター 出願日：2008年4月25日（優先日：2007年4月27日） 発明者：谷 憲三朗他</p>
--	---