

厚生科学研究費補助金 がん克服戦略研究事業

平成11年度総括研究報告書・分担研究報告書

研究課題名：難治がん治療のための新技術開発
課題番号：H10-がん-024
主任研究者：山口 建

分野6 : 新しい治療法の開発に関する研究
研究テーマ 難治がん治療のための新技術開発

主任研究者 国立がんセンター研究所副所長 山口 建

研究要旨 本研究では、難治がんの治癒、がんの再発防止に役立つ新しいがん診療技術を開発し、我が国におけるがん治療成績の向上を図ることを目的とする。遺伝性高発がん家系のうち、多内分泌腺腫瘍症に関し、原因遺伝子の変異と臨床病態との関連について研究を進め、特に2型については遺伝子診断に基づく診療ガイドラインの作成を試みた。新しい抗がん剤については、蛋白リン酸化酵素阻害剤の第1相臨床試験を実施した。がんの免疫療法については、前処置療法としての骨髄非破壊的処置を施した上で、同種造血幹細胞移植を行い、ドナー由来のリンパ球を介した免疫反応による抗腫瘍効果を期待する非特異的免疫療法と細胞免疫療法としてのがん特異的抗原パルス樹状細胞療法の臨床応用を開始した。さらに、ヒトNK様T細胞の一部を構成すると考えられるTCRV α 24陽性T細胞を α -galactosylceramideの存在下で培養し、細胞数を約1000倍程度増殖させ得る技術を開発した。陽子線治療については、治療計画へのデジタル画像の応用として、X線CT画像によるデジタル化再構成画像の高精細化技術を開発した。

分担研究者

- | | | |
|-----------------|-----|--------|
| 1. 国立がんセンター研究所 | 副所長 | 山口 建 |
| 2. 国立がんセンター研究所 | 部長 | 若杉 尋 |
| 3. 国立がんセンター中央病院 | 医長 | 高上 洋一 |
| 4. 国立がんセンター東病院 | 医長 | 佐々木 康綱 |
| 5. 国立がんセンター東病院 | 医長 | 荻野 尚 |
| 6. 愛知県がんセンター | 副部長 | 福島 雅典 |
| 7. 東京女子医科大学 | 教授 | 小原 孝男 |
| 8. 静岡県立大学薬学部 | 助教授 | 望月 徹 |

A. 研究目的

本研究は、難治がん治療成績の向上あるいはがん治療後の再発防止を目指し、新しいがんの診断・治療技術を開発することを目的とする。

家族性腫瘍症候群家系である多内分泌腺腫瘍症1及び2型の遺伝子診断法と、それをを用いた早期発見、早期治療法を確立するために、1型については、多数例について遺伝子診断結果を解析し、その有用性を検討する。2型については、甲状腺髄様がんに対する予防的甲状腺摘出手術に関連し、患者、家族、医療関係者が、遺伝子診断の持つ特殊性を理解し、生命予後や心理的、経済的、倫理的影響などについて、遺伝カウンセリングまでを含め、より良い診療が可能となるよう、遺伝子診断結果に基づく診療ガイドラインの作成を試みる。

新しい抗腫瘍薬としては、蛋白リン酸化酵素阻害剤としてのstaurosporine誘導体であるUCN-01について、第1相臨床試験を実施し、中心静脈を用いたUCN-01の3時間点滴静注法によ

る最大耐量と至適投与量の決定、容量規制毒性の評価、薬物動態解析並びに抗腫瘍効果の推定を試みる。さらに、プロスタグランジン誘導体については、臨床第1相試験のための準備を進め、生理活性ペプチドのがん治療への応用に関しては、前年度の成果をもとに高カルシウム血症の惹起因子に対する拮抗薬の活性増強に関する検討を行う。

がんの免疫療法については、従来の骨髄移植や末梢血幹細胞移植とは異なり、前処置療法として骨髄非破壊的処置を施した上で、同種造血幹細胞移植を行い、ドナー由来のリンパ球を介した免疫反応による抗腫瘍効果を期待する非特異的免疫療法の確立を目指し、また、新しい細胞免疫療法としてがん特異的抗原パルス樹状細胞療法について、前立腺がん症例を対象とした臨床評価を試みる。さらに、新たな細胞免疫療法の担い手として期待されているヒトNK様T細胞についてヒトNK様T細胞の一部を構成すると考えられるTCRV α 24陽性T細胞の増殖技術について検討を進める。

陽子線治療については、治療計画へのデジタル画像の応用として、X線CT画像によるデジタル化再構成画像の高精細化技術を開発する。

B. 研究方法

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

がんの遺伝子診断の臨床応用については、本邦のMEN1型の23家系とMEN2型の55家系について、それぞれの原因遺伝子であるMEN1及びRETの胚細胞変異の分析技術を確立し、変異様式と臨床病態との関連を検討し、さらに、遺伝子情報を、

保因者診断などに生かすための研究を行った。また、MEN2型に関しては、遺伝子診断結果に基づくMEN2患者の診療のための指針として、“MEN2型の遺伝子診断及びそれを用いた診療のガイドライン”の作成を試みた。

(2) 新しい抗がん剤に関する研究

蛋白リン酸化酵素阻害剤としてのstaurosporine誘導体UCN-01の第1相臨床試験においては、0.65mg/sqm/3hrを初回投与量として3時間静注法による投与を行った。各投与レベルには1-7例の症例を登録することにより容量規制毒性を評価し、各症例ごとの血中薬物濃度の経時的測定をも行った。また同時期に米国で進行中の72時間点滴法による第1相臨床試験との比較検討を行った。

プロスタグランディン誘導体lipo-TEI-9826については、臨床試験で予定される持続静注投与によって、*in vitro*で認められる用量反応関係が、生体でも得られるか否か検討した。このため、フリームービング装置を取り付けたWalker256担がんラットを用いて、持続静注による治療実験を行った。

(3) 生理活性ペプチドのがん治療への応用

*in vivo*で、高カルシウム血症惹起因子parathyroid hormone-related protein (PTHrP)に対してアンタゴニスト作用を有する[desamino-Leu⁸, Asn¹⁰, Leu¹¹, D-Phe(4-F)¹²]PTHrP(8-34)NH₂を基本骨格として、以下の7種類のPTHrP(8-34)誘導体を設計し、固相法により化学合成した。

1. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², H¹³]-PTHrP(8-34)NH₂
2. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², N¹⁶]-PTHrP(8-34)NH₂
3. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², S¹⁷]-PTHrP(8-34)NH₂
4. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², H¹³, N¹⁶]-PTHrP(8-34)NH₂
5. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², H¹³, S¹⁷]-PTHrP(8-34)NH₂
6. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², N¹⁶, S¹⁷]-PTHrP(8-34)NH₂
7. [desamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹², H¹³, N¹⁶, S¹⁷]-PTHrP(8-34)NH₂

(4) がんの新しい免疫療法の開発

骨髄非破壊的処置後の同種造血幹細胞移植については、新たなプリン誘導体であるクラドリピンを用いた骨髄非破壊的前処置療法を開発し、国立がんセンター中央病院において治療を受ける造血器腫瘍患者のうち、他の治療では治癒や長期生存を期待できないような病状で、かつ年齢制限(55歳)や臓器機能障害があるために通常血縁/非血縁者間同種造血幹細胞移植の適応にならない患者を対象とし臨床試験を実施した。

がん特異的抗原パルス樹状細胞療法については、進行期前立腺がんにおける術後ホルモン療法抵抗性患者を対象とし、血液成分採取装置により末梢血細胞を採取して体外に取り出し、その後比重遠心液を用いて樹状細胞の前駆細胞を濃縮した。つぎにGM-CSF・PSA融合蛋白を加えて無血清、無サイトカイ

ンの状態で40時間培養した。このようにして得られた処理済みの抗原ペプチド断片と膜表面のMHC Class I分子とを結合させた形で提示する樹状細胞を、2週毎に計3回患者に点滴静注する第1相臨床試験を開始した。

また、ヒトNK様T細胞の免疫療法への応用を目指し、その一部を構成すると考えられるTCRV α 24陽性T細胞を α -galactosylceramideの存在下で培養し、細胞増殖に関する検討を行った。

(5) 陽子線治療のための画像診断技術の開発

デジタル化再構成画像(DRR: digitally reconstructed radiograph)は横断面CT像より、焦点平面画像を再構成するものである。陽子線治療の位置照合の基準となるX線CT横断面画像より作成されるデジタル化再構成画像の作成のために、CT画像マトリックス数を256×256から512×512へ増やすことが空間分解能の向上に寄与するか否か検討した。

また、空間分解能ならびに密度分解能向上のために新しい再構成計算アルゴリズムを開発した。第1の方法は平面法(Plane weighting method)で、通過ボクセルのCT値を参照しながら計算する方法であり、第2の方法は立体法(Solid weighting method)で、CTボクセルを5分割し、各分割ボクセルの仮想CT値は比例配分とし、通過距離線分比を掛けて重み付けする方法である。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断については、患者の診療にあたる施設の倫理審査委員会等の承認とインフォームド・コンセントを得た上で行った。さらに、解析結果は担当医のみに報告し、情報の漏洩については細心の注意を払った。

抗がん剤の第1相臨床試験及び新しい免疫療法の臨床試験においては、患者の診療にあたる施設の倫理審査委員会等の承認とインフォームド・コンセントを得た上で行った。

陽子線治療のための画像診断技術開発研究においては、開発にあたっては患者データ等を用いなかった。また、実際の評価の際に患者データを用いたが、患者識別情報等を排除する等の対応をなした。また、用いた臨床画像は当施設のみで使用し、外部での閲覧等を行わなかった。

C. 研究結果

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

本邦のMEN1型の23家系とMEN2型の55家系について、それぞれの原因遺伝子であるMEN1及びRETの胚細胞変異について分析し、MEN1型の20家系(87%)、MEN2型の53家系(96%)において変異を明らかにした。さらに、MEN1型については、MEN1遺伝子の低表現度・低浸透率の変異が家族性副甲

状腺機能亢進症を惹起することを示す症例を発見した。MEN2型については、悪性度が高くまた95%の症例にM918Tの胚細胞性変異を有するとされるMEN2B型症例において、V804Mの変異にY806Cの新規な変異が同一アレル上に加わっている症例を発見した。

「MEN2の遺伝子診断及びそれを用いた診療のガイドライン(案)」については、収集した情報と専門家の意見をもとにして、全体的な勧告として以下の3点を示した。

1. MEN2型患者及びMEN2型が疑われる患者においては、RET遺伝子診断を行うことにより本症の確実な診断が可能であるので、遺伝子診断を行うことが推奨される。

2. RET遺伝子変異が明らかになった患者の血縁者においては遺伝子検査を行うことによりMEN2型の保因者診断ができる。MEN2型は若年時からの発症が知られており、保因者の確実な診断は早期診断・早期治療を確実にするものであるため、幼小児期を含む若年時から遺伝子検査を行うことが考慮されてよい。

3. 一般の臨床検査とは異なり、遺伝子診断の結果は被験者個人だけでなく、その家族にも種々の影響を与えることが予想される。また遺伝子診断ならびにそれに基づく治療の効果については明らかになっていない事柄もあるので、RET遺伝子診断の適用にあたっては倫理的、社会的、そして法的問題点を十分考慮することが望ましい。

以上を踏まえ、ガイドライン原案の審査として、1999年6月7日に作成したガイドライン原案(MEN GL 99 draft version 5.4)について、生命倫理、遺伝カウンセリング、看護学、内分泌専門医、遺伝学研究者などから構成されたメンバーによる検討会を開催し、同検討会で出された意見をもとに原案を修正し、1999年8月20日までに修正版(MEN GL 99 draft version 6.2)および被験者への説明と同意の文書(version 1.1.2)を作成した。ガイドライン案にはその後さらに修正を加え、2000年2月20日に作成したMEN GL 2000 draft version 1.0を最終版とした。

(2) 新しい抗がん剤に関する研究

蛋白質酸化酵素阻害剤UCN-01の第1相臨床試験においては、0.65mg/sqm/3hrより90.4mg/sqm/3hrまでの増量が可能であった。この間各種悪性腫瘍患者30症例が登録された。用量規制毒性としては肝障害、悪心嘔吐、アミラーゼ上昇、血圧上昇を認めた。さらに用量規制毒性には至らないもののgrade2以上の毒性として耐糖能異常を認めた。また本剤投与との関連性は否定されたものの、1例に致命的肺炎を認めた。以上により最大耐量及び至適投与量は、90.4mg/sqm/3hr以上であると考えられた。薬物動態では本剤は極めて緩やかに血中から消失し、消

失相の半減期は319-8, 650時間であった。これは、本剤が α 1-acid glycoproteinと強い結合をすることにより、全身クリアランスが異常に小さくなることに起因しているためと考えられた。そこで継続投与にあたっては2回目以降の投与量を初回投与量の50%に抑えることにより、蓄積的な血中濃度上昇を予防した。投与薬剤量と最高血中濃度もしくはAUCとの間には線形性を認めた。子宮原発平滑筋肉腫及び結腸がん症例各1例ずつに腫瘍縮小を観察し、本投与量範囲で治療域に入っていることが推定された。一方72時間持続点滴静注法による米国の第一相試験では、最大耐量が128mg/sqm/72hrに決定され、用量規制毒性として血糖値上昇、低血圧が報告された。

プロスタグランディン誘導体に関する動物実験においては、LipoTEI-9826は持続静注投与下では単位時間当たりの用量とAUCの間に直線関係が成立し、用量依存性に腫瘍を抑制した。定常状態における平均血中濃度(C_{ss})=1 μ g/mlに達すると(240mg/kg/日持続静注時)、投与終了後も腫瘍サイズは縮小し続け、完全に抑制された。この投与量での毒性は認められなかった。この実験結果から、第1相臨床試験は、血中濃度モニタリングしながら C_{ss} =1 μ g/mlを目標として増量し、毒性評価するデザインが合理的であることがわかった。

(3) 生理活性ペプチドのがん治療への応用

精製ペプチドの収率は粗製ペプチドから計算して20.3%から28.5%と満足できるものであった。精製ペプチドの酸分解物のアミノ酸分析値およびFAB質量分析値はいずれも理論値に良く一致し、分析用HPLCにおいても単一の鋭いピークとして溶出し合成ペプチドが高純度であることを証明した。

(4) がんの新しい免疫療法に関する研究

骨髄非破壊的処置後の同種造血幹細胞移植については、新たなプリン誘導体であるクラドリピンを用い5例に実施した。ここでは通常の移植術に見られるような重篤な副作用は発生せず、患者のQOLは通常の抗がん剤治療程度に保たれた。

がん特異的抗原パルス樹状細胞療法については、進行期前立腺がんにおける術後ホルモン療法抵抗性患者を対象として実施し、第1相臨床試験の第一段階で治療を受けた6名中1名において、転移リンパ節が65%縮小したことが確認された。

ヒトNK様T細胞の一部を構成すると考えられるTCRV α 24陽性T細胞を α -galactosylceramideの存在下で培養すると、培養開始10日前後の短期培養期間中に細胞を約1,000倍程度増殖させ得ることを発見した。さらに、この前駆細胞がCD14陰性細胞に含まれ、CD14陽性細胞の補助の元にTCRV α 24陽性T細胞に成熟することを見いだした。

(5) 陽子線治療のための画像診断技術の開発

DRR再構成計算のマトリックス数を256 \times 256から512 \times 512

へ増やしても、空間分解能の向上は得られなかった。開発した新しい計算アルゴリズムのうち立法により密度分解能の向上が図られた。また、物理的に薄いCTスライス厚を用いることが体軸方向の空間分解能向上に直接寄与し、体軸方向の空間分解能はCTスライス厚×1.4であった。

D. 考察

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

遺伝性がんは、ある個人について未来の発症を予測し、さらに1人の遺伝子分析結果が、血縁者全員に影響を及ぼすという点で、従来の医療にはない新たな側面を有している。本研究では、遺伝性がんの一つであるMEN1型、2型を対象に、遺伝子診断技術の改良と、それを用いた早期発見、早期治療法を検討してきた。現在の解析技術では、1型で87%、2型で96%の診断が可能となったが、より診断精度を上げるため、現在の技術では、原因遺伝子の異常を発見し得ない家系についての分析を進める必要がある。すでに、従来の方法では検出が困難な遺伝子の領域欠失を検出する方法を開発し、MEN1型においてMEN1遺伝子の領域欠失を発見した。今後、他の遺伝性がんにおいても、がん抑制遺伝子の領域欠失による遺伝性がんの変異解析を行うとともに、これらの経験を踏まえ、従来、非遺伝性と考えられていたがん患者の中に遺伝性がんがどの程度含まれているか検討する。

MEN2型はきわめて希な疾患であり、ガイドライン作成に有用な情報は十分ではない。しかし遺伝子診断に基づいた診療を実施するにあたって未解決の問題が残されていることも事実である。全国 of 患者、家族、医療関係者が、遺伝子診断の持つ特殊性を理解し、生命予後や心理的、経済的、倫理的影響などについて、遺伝カウンセリングまでを含め、より良い診療が可能となるよう、遺伝子診断を用いた診療ガイドラインの作成を試みる。なお、近年、遺伝性疾患を対象とした遺伝子解析研究の生命倫理的な観点からの配慮が重視されるようになり、これらの研究に対する研究指針の作成が進められている。本研究においては、これらの研究指針との整合性にも配慮しながら最終的な案を作成する予定である。

(2) 新しい抗がん剤に関する研究

蛋白質酸化酵素阻害剤UCN-01は、各種の前臨床試験の結果に基づき、その抗腫瘍効果はcytostatic effectであると考えられている。第1相臨床試験において、本剤により現実には腫瘍縮小を観察したことより、将来に向けて殺細胞性に作用する抗がん剤との併用療法に期待を抱かせるものである。また消失相の半減期が予想外に長く、長時間にわたって血中にとどまっていることは、必ずしも米国の試験で行われた長時間にわたる持

続点滴法による投与が必要でないことを強く示唆する結果と考えられた。

プロスタグランジン誘導体lipo-TEI-9826の前臨床試験においては、今回得られた実験結果から、持続静注によって定常血中濃度1 μ g/mlを維持すれば、毒性なく、強い抗腫瘍効果が得られることが実証され、第1相試験の合理的デザインができたものと考えられる。

(3) 生理活性ペプチドのがん治療への応用

本研究では持続性作用を有するPTHrPアンタゴニストの開発を目指し、先に見出した強力なアンタゴニストである[desamino-Leu⁸, Asn¹⁰, Leu¹¹, D-Phe(4-F)¹²]PTHrP(8-34)NH₂を基本骨格として、配列内の受容体結合部位である13位、16位および17位のアミノ酸残基をそれぞれあるいは同時にPTHのそれと置換した7種類の新規PTHrP(8-34)誘導体を設計しその化学合成を行った。これらのペプチドは、よりPTHに類似した構造を有し同時にPTHrPアンタゴニスト活性の発現に必須の構造であるdesamino-L⁸, N¹⁰, L¹¹, D-F(4-F)¹²構造を保持することから強力なアンタゴニストとなることが期待できる。

(4) がんの新しい免疫療法の開発に関する研究

同種血液幹細胞移植術では、強力な術前療法である超大量化学療法によってがん細胞が根絶されると考えられていた。しかし最近に至って、血液幹細胞移植術を併用する場合、抗がん剤の作用のみならず、新たな作用機構によって抗腫瘍効果を発揮している可能性を示唆する所見が得られている。すなわち、白血病においては軽度のGVHDが発生した場合のほうが、全く起こらなかった場合に比べて再発が少なく、移植後の無病生存率が高まる事実が明らかにされ、移植片対白血病(graft-versus-leukemia: GVL)効果と呼ばれるようになった。同様の現象は固形がんにおいても観察されていることから、ドナー由来のリンパ球、中でもT細胞にはGVHDを起こすという不都合な側面もある反面、抗腫瘍効果もあると考えられるに至り、"同種細胞療法"という概念が確立された。

この同種免疫反応は時に強力な抗腫瘍効果を生む可能性があり、大量抗がん剤療法や放射線照射よりも、強力な同種免疫反応を重視した移植法が考慮され、骨髄非破壊的処置を施した上での同種造血幹細胞移植が検討された。この際の骨髄非破壊的前処置療法として、新たなプリン誘導体であるクラドリピンを用いる臨床研究を開始した。これにより従来は造血幹細胞移植の対象外とされた高齢者や臓器障害のある患者においても臓器毒性が極めて少ないために移植適応を拡大できる可能性があり、また今後は固形腫瘍に対する非特異的免疫療法の可能性が示された。

免疫担当細胞の中でも、エフェクター細胞の活性化に不可欠

な抗原提示細胞として従来の単球・マクロファージより強力な樹状細胞 (dendritic cell; DC) の役割が注目を集めるに至っている。樹状細胞を用いる治療法の臨床開発を目標とし、進行期の前立腺がんを対象に、腫瘍特異抗原ペプチドでパルス刺激をなした樹状細胞による免疫療法を試みた。この治療法により、今回1例ではあるが、実際に臨床効果が確認されたことは意義深いことであり、今後のさらなる検討が必要と考える。

以上の臨床成績に関連して、腫瘍免疫をなす細胞群についての研究の進展は著しいものがある。がん細胞に対する免疫担当エフェクター細胞として従来から細胞傷害性T細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) とnatural killer (NK)細胞が考えられてきた。これらの細胞のT細胞受容体とNK細胞受容体による腫瘍細胞の認識と傷害機構は最近になり分子レベルで急速に明らかになりつつある。又、最近T細胞受容体とNK細胞受容体を同時に発現しているNK様T細胞の存在が明らかにされた。NK様T細胞はその強力な抗腫瘍能とMHCクラスI類似の分子であるCD1抗原を介して糖脂質を認識するというユニークな細胞として最近広く免疫学者や腫瘍学者の注目を集めるようになった。我々はこれらの免疫担当細胞のうち、特にNK様T細胞に注目し研究を続けてきたが、今回、NK様T細胞の増殖技術を確認し、NK様T細胞療法の臨床応用の可能性を示し得たと考える。

(5) 高精度の陽子線治療を行うための画像診断技術の開発

DRRは1983年にその概念が発表され、1990年に実用化されたが、それ以降DRRの画質に関する研究は全く行われていなかった。近年CT画像が放射線治療計画に利用されるようになったが、位置照合は点焦点平面画像に頼らざるを得ず、治療計画と実際の治療との位置照合はDRR画像との対比でのみ実行可能な状況に変わりはない。その結果、漸くDRRと位置決め用平面画像との乖離が注目され始めたところである。

今回の検討では、DRRの空間分解能向上のためには物理的に薄いスライス厚を用いる以外には、当面の解決策がないことが明らかとなった。密度分解能は再構成計算アルゴリズムの改良により若干の改善は図れるものの、満足すべき画像ではなかった。従って、この問題の解決のためには別のアプローチ、例えばパターン認識画像処理技術などからの検討が必要であることが示唆された。

E. 結論

MEN1型及び2型については、臨床応用可能な精度の高い遺伝子診断技術を確認した。今後、他の遺伝性高発がん家系について、遺伝子大領域欠失、低浸透度変異の可能性を検討するとともに、これらの病態における遺伝子診断に関する倫理的・法的・社会的諸問題への対策の一つとして、遺伝子診断に基づく

診療ガイドラインの作成を進める必要がある。

新しい抗がん剤については、蛋白質酸化酵素阻害剤の第1相臨床試験を実施し、既存の抗がん剤には見られない副作用、血中動態を確認した。腫瘍縮小効果が認められたことから今後の併用療法の効果が期待される。

がんの免疫療法については、骨髄非破壊的処置を施した上で同種造血幹細胞移植と細胞免疫療法としてのがん特異的抗原パルス樹状細胞療法の臨床応用が開始された。いずれも、新しい治療法として期待される。また、新たな免疫担当細胞として、その腫瘍効果が期待されているヒトNK様T細胞の大量培養技術が開発された。陽子線治療については、治療計画へのデジタル画像の応用として、X線CT画像によるデジタル化再構成画像の高精細化技術が開発された。

F. 研究発表

論文発表

山口 建

1. Miyauchi, A., Futami, H., Hai, N., Yokozawa, T., Kuma, K., Aoki, N., Kosugi, S., Sugano, K. and Yamaguchi, K. Two germline missense mutation at codon 804 and 806 of the RET proto-oncogene in the same allele in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90: 1-5, (1999).
2. Nagasaki, K., Maass, N., Manabe, T., Hanzawa, H., Tsukada, T., Kikuchi, K., and Yamaguchi, K. Identification of a novel gene, DAM1, amplified at chromosome 1p13.3-21 region in human breast cancer cell lines. *Cancer Lett.*, 140: 219-226, (1999).
3. Nagasaki, K., Manabe, T., Hanzawa, H., Maass, N., Tsukada, T., and Yamaguchi, K. Identification of a novel gene, LDOC1, down-regulated in cancer cell lines. *Cancer Lett.*, 140: 227-234, (1999).
4. Nagasaki, K., Sasaki, K., Maass, N., Tsukada, T., Hanzawa, H., and Yamaguchi, K. Staurosporine enhances cAMP-induced expression of neural-specific gene VGF and tyrosine hydroxylase. *Neurosci. Lett.*, 267: 177-180, (1999).
5. Ohkura, N., Hosono, T., Maruyama, K., Tsukada, T., Yamaguchi, K. An isoform of Nurr1 functions as a negative inhibitor of the NGFI-B family signaling. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1444: 69-79, (1999).

6. Maruyama, K., Tsukada, T., Hosono, T., Ohkura, N., Kishi, M., Honda, M., Nara-Ashizawa, N., Nagasaki, K. and Yamaguchi, K. Structure and distribution of rat menin mRNA. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 156: 25-33, (1999).
 7. Kishi, M., Tsukada, T., Shimizu, S., Hosono, K., Ohkubo, T., Kosuge, T., Sugano, K., Kanbe, M., Obara, T. and Yamaguchi, K. A novel splicing mutation (894 9 G→A) of the MEN1 gene responsible for multiple endocrine neoplasia type 1. *Cancer Lett.*, 142: 105-110, (1999).
 8. Hosono, T., Tsukada, T., Maruyama, K., Kishi, M., Ohkura, N., Sasaki, K., Nara-Ashizawa, N., Iwanaga, T., Yanaihara, N., Kameya, T. and Yamaguchi, K. Antisera against human menin applicable to immunoblotting and immunocytochemistry. *Biomed. Res.*, 20:51-55, (1999).
 9. Stieber, P., Dienemann, H., Schalhorn, A., Schmitt, U.M., Reinmiedl, J., Hofmann, K., Yamaguchi, K. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) - a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res.*, 19: 2673-2678, (1999).
 10. Kurata, N., Kuwabara, T., Tanii, H., Fuse, E., Akiyama, T., Akinaga, S., Kobayashi, H., Yamaguchi, K. and Kobayashi, S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a novel protein kinase inhibitor, UCN-01. *Cancer Pharmacol.*, 44: 12-18, (1999).
 11. Manabe, T., Fukuda, K., Pan, J., Nagasaki, K., Yamaguchi, K. and Ogawa, S. Hypertrophic stimuli augment expression of cMG1/ERF-1, a putative zinc-finger motif transcription factor, in rat cardiomyocytes. *FEBS Lett.*, 463: 39-42, (1999).
 12. Ohkura, N., Hosono, T., Maruyama, K., Tsukada, T. and Yamaguchi, K. The human NGFI-B gene gives rise to two isoforms with different expression profiles. *Biomed. Res.*, 20: 213-218, (1999).
 13. Kusuhara, M., Nagasaki, K., Kimura, K., Maass, N., manabe, T., Ishikawa, S., Aikawa, M., Miyazaki, K. and Yamaguchi, K. Cloning of hexamethylene-bis-acetamide-inducible transcript, HEXIMI, in human vascular smooth muscle cells. *Biomed. Res.*, 20: 273-379, (1999).
 14. Honda, M., Tsukada, T., Tanaka, H., Maruyama, K., Yamaguchi, K., Obara, T., Yamaji, T. and Ishibashi, M. : A novel mutation of the MEN1 gene in a Japanese kindred with familial isolated primary hyperparathyroidism. *Eur. J. Endocrinol.*, 142: 138-143, (1999).
- 若杉 尋
15. Wakasugi, H., Miyazaki, K., Maruoka, H., Kato, K., Miyata, M., Sugimura, T. and Terada, M. Regression and prevention of autochthonous tumors induced by 3-methylcholanthrene after injection of a T-cell receptor alpha/beta positive and CD4/CD8 double negative T-cells. *Immunol. Lett.*, 69: 329-337, (1999).
 16. Shinohara, K., Ikarashi, K., Maruoka, H., Miyata, M., Sugimura, T., Terada, M., and Wakasugi, H. Functional and phenotypical characteristics of hepatic NK-like T cells in NK1.1-positive and -negative mouse strains. *European J. Immunol.*, 29: 1871-1878, (1999).
 17. Miyazaki, K., Noda, N., Terada, M. and Wakasugi, H. Elevated Serum Levels of Thioredoxin in Patients with Chronic and/or Malignant Liver Diseases. *MARCEL DEKKER, INC. Redox Regulation of Cell Signaling and Its Clinical Application* : 235-250, (1999).
 18. Wakasugi, H., Yamaguchi, N. Teleconferences between the Gustave-Roussy Institute (Villejuif, France) and the National Cancer Center (Tokyo, Japan) as a New Bilateral Cooperative Activity. *Jpn. J. Clin. Res.*, 91: 135-137, (2000).
- 高上洋一
19. Ando, M., Yokozawa, T., Sawada, J., Takaue, Y., Togitani, K., Kawahigashi, N., Narabayashi, M., Takeyama, K., Tanosaki, R., Mineishi, S., Kobayashi, Y., Watanabe, T., Adachi, I. and Tobinai, K. Cardiac conduction abnormalities in patients with breast cancer undergoing high-dose chemotherapy and stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant.*, 25: 185-189, 2000.
 20. Watanabe, T., Kawano, Y., Kanamaru, S., Onishi, T., Kaneko, S., Wakata, Y., Nakagawa, R., Makimoto, A., Kuroda, Y., Takaue, Y. and Talmadge, J. E. Endogenous interleukin (IL)-8 surge in granulocyte-

- colony stimulating factor induced peripheral blood stem cell mobilization. *Blood*, 93: 1157-1163, (1999).
21. Yano, M., Watanabe, A., Kawano, Y., Watanabe, T. and Takaue, Y. Facilitated engraftment by intramedullary administered enriched allogeneic CD34+ cells? *Bone Marrow Transplant.*, 23: 847-848, (1999).
 22. Kawano, Y., and Takaue, Y. Is filgrastim as useless after PBSC transplantation for adults as it could be for children? *Blood*, 93: 3566, (1999).
 23. Kawano, Y., Takaue, Y., Watanabe, T., Abe, T., Okamoto, Y., Iwai, A., Iwai, T., Watanabe, A., Ito, E., Makimoto, A., Nakagawa, R., Watanabe, H., Sato, J., Suenaga, K., Suzuya, H., Ohnishi, T., Kanamaru, S., Kaneko, S. and Kuroda, Y. Efficacy of the mobilization of peripheral blood stem cells by granulocyte colony-stimulating factor in pediatric donors. *Cancer Res.*, 59: 3321-3324, (1999).
 24. Watanabe, T., Kawano, Y., Watanabe, A. and Takaue, Y. Autologous and allogeneic transplantation with peripheral blood CD34+ cells: a pediatric experience. *Haematologica*, 84: 167-176, (1999).
 25. Takaue, Y. and Tanosaki, R. Progress in cell therapy in Japan (1999). *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 29: 117-118, (1999).
 26. Takaue, Y., Eguchi, H., Kawano, Y., Watanabe, A., Mugishima, H. and Kaneko, M. : Transplantation with PBSC, manipulated or unmanipulated, for the treatment of childhood cancer. In: *Autologous Blood and Marrow Transplantation*. Dicke, K. A., Keating, A. (eds), Carden Jennings Publishing, Charlottesville, Virginia, pp417-421, (1999).
 27. Kawano, Y., Watanabe, T. and Takaue, Y. Mobilization/harvest and transplantation with blood stem cells, manipulated or unmanipulated. *Pediatr. Transplant.*, 3(suppl 1): 65-71, (1999).
 28. Takaue, Y. and Tanosaki, R. Progress in cell therapy in Japan 1999. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 29: 117-118, (1999).
 29. Horikoshi, Y., Mimaya, J., Takaue, Y., Kawano, Y., Watanabe, A., Watanabe, T., Sekine, I., Nishikawa, K., Tsunematsu, Y., Endo, M., Eguchi, H., Koyama, T., Kawakami, K., Oka, T., matsushita, T., Koizumi, S., Ohira, M. and Fujimoto, T. : Feasibility study of autologous peripheral blood stem cell transplantation for the treatment of childhood acute myelogenous leukemia. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, (in press).
 30. Makimoto, A., Takaue, Y., Abe, T., Kajiume, T., Okamoto, Y., Sato, J., Nakagawa, R., Watanabe, H., Watanabe, T., Kawano, Y., Kuroda, Y. and Sweet, L. Comparative evaluation of equipment with a Baxter CS-3000 cell separator for collecting peripheral blood cells from children. *J. Hematother.*, (in press).
 31. Watanabe, T., Kajiume, T., Abe, T., Kawano, Y., Iwai, A., Iwai, T., Takaue, Y. and Kuroda, Y. Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation in children with hematological malignancies from HLA-matched siblings. *Med. Pediatr. Oncol.*, (in press).
 32. Watanabe, T., Mineishi, S., Kawano, Y. and Takaue, Y. Partially matched transplants with allogeneic CD34+ blood cells. *Leuk. Lymphoma.*, (in press).
 33. Kawano, Y., Takaue, Y., Watanabe, T., Okamoto, Y., Abe, T., Kuroda, Y. and Watanabe, A. Autologous and allogeneic transplantation with blood CD34+ cells: a pediatric experience. In: *Hematopoietic Stem Cell Therapy*. Champlin R, Palsson B, Ho AD (eds), Cambridge University Press, London, (in press).
- 佐々木康綱
34. Tokuda, Y., Watanabe, T., Omuro, Y., Ando, M., Katsumata, N., Okumura, A., Ohta, M., Hujii, H., Sasaki, Y., Niwa, T. and Tajima, T. Dose escalation and pharmacokinetic study of a humanized anti-her2 monoclonal antibody in patients with her2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Brit. J. Cancer*, 81: 1419-1425, (1999).
 35. Okada, S., Sakata, S., Matsumoto, S., Kurihara, M., Sasaki, Y., Ohashi, Y. and Taguchi, T., for the Cooperative Group of Docetaxel for Pancreatic Cancer in Japan.: Phase II study of docetaxel in patients with metastatic pancreatic cancer: A Japanese cooperative study. *Brit. J. Cancer*, 80:438-443, (1999).
 36. Japanese Docetaxel Ovarian Cancer Study Group(Fujikawa, K., Kohno, I., Tanaka, K., Ogita, S., Sasaki, Y., Hirabayashi, K., Yakushiji, M., Tsunematsu, R., Ohashi, K. and Noda, K.) : Phase II dose es-

calation: A novel approach to balancing efficacy and toxicity of anticancer agents. *Anticancer Res.*, 19:639-644, (1999).

萩野 尚

37. Ohtsu, A., Boku, N., Muro, K., Chin, K., Muto, M., Yoshida, S., Satake, M., Ishikura, S., Ogino, T., Miyata, Y., Seki, S., Kaneko, K. and Nakamura, A. Definitive chemoradiotherapy for T4 and/or M1 lymph node squamous cell carcinoma of the esophagus. *J. Clin. Oncol.*, 17: 2915-2921, (1999).
38. Muto, M., Ohtsu, A., Miyamoto, S., Muro, K., Boku, n., Ishikura, S., Satake, M., Ogino, T., Tajiri, H. and Yoshida, S. Concurrent chemoradiotherapy for esophageal carcinoma patients with malignant fistulae. *Cancer*, 86: 1406-1413, (1999).
39. Ishikura, S., Ogino, T., Ono, M., Arai, T., Sugito, M., Shimizu, W., Kawashima, M., Imai, M., Ito, Y. and Ikeda, H. Preliminary results of pelvic autonomic nerve-preserving surgery combined with intraoperative and postoperative radiation therapy for patients with low rectal cancer. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 29: 429-433, (1999).
40. Kawashima, M., Ogino, T., Fujii, H., Ishikura, S., Ito, Y. and Ikeda, H. Local-regional control by conventional radiotherapy according to tumor volume in patients with squamous cell carcinoma of the pharyngolarynx. *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 29: 467-473, (1999).

福島雅典

41. Sasaki, H., Niimi, S., Akiyama, M., Tanaka, T., Hazato, A., Kurozumi, S., Fukushima, S. and Fukushima, M. Antitumor activity of 13, 14-dihydro-15 prostaglandin-A1-methyl ester integrated into lipid microspheres against human ovarian carcinoma cells resistant to cisplatin in vivo. *Cancer Res.*, 59: 3919-3922, (1999).
42. Hayakawa, T., Naruse, S., Kitagawa, M., Ishiguro, H., Kondo, T., Kurimoto, K., Fukushima, M., Takayama, T., Horiguchi, Y., Kuno, N., Noda, A. and Furukawa, T. A prospective multicenter trial evaluation diagnostic validity of multi-variate analysis and individual serum from benign pancreatic diseases. *Int. J. Pancreatology*, 25:23-29, (1999).
43. Leigh, B.R., Gandara, D.R., Crowley, J.J., Furuse, K.,

Livingston, R.B., Fukushima, M. and Coltman, C.A. Summary of the proceedings of the United States-Japan lung cancer clinical trials summit: San Francisco, CA, 20-22 Nov. 1998. *Lung Cancer*, 24: 181-191, (1999).

44. Fukushima, S., Kishimoto, S., Takeuchi, Y. and Fukushima, M. Preparation and evaluation of o/w type emulsions containing antitumor prostaglandin. *Adv. Drug. Deliv. Rev.*, (in press).

小原孝男

45. Zhu, H., Kato, Y., Tanaka, R., Obara, T., Sato, K., and Kobayashi, M. Osteopontin expression in papillary thyroid carcinoma. *Acta Histochem. Cytochem.*, 32: 281-285, (1999).
46. Sato, K., Yamazaki, K., Yamada, E., Kanaji, Y., Miura, M., and Obara, T. Immunoglobulin G of untreated Graves' patients with or without TSH receptor antibody (determined by porcine thyrocytes) universally elicit potent thyroid hormone-releasing activity in cultured human thyroid follicles. *Thyroid*, 9: 979-988, (1999).

望月 徹

47. Genevieve, R., Magous, R., Mochizuki, T., Nguyen, D. L., Martinez, J., Ball, J-P., Bataille, D. and Jarrousse, C. Glicentin and oxyntomodulin modulate both the phosphoinositide and cyclic adenosine monophosphate signaling pathways in gastric myocytes. *Endocrinology*, 140: 22-28, ((1999)).
48. Rodier, G., Magous, R., Mochizuki, T., Bali, J. P., Bataille, D. and Jarrousse, C. A target cell to oxyntomodulin and glicentin: The antral smooth muscle cell. In VIP, PACAP, and Related Peptides Third international symposium. *Annals New York Academy of Sciences*. 865: 458-462, (1999).
49. Nagasawa, S., Nishikawa, Y., Li, J., Futai, Y., Kanno, T., Iguchi, K., Mochizuki, T., Hoshino, M., Yanaihara, C. and Yanaihara, N. Simple enzyme immunoassay for the measurement of immunoreactive chromogranin A in human plasma, urine and saliva. *Biomed. Res.*, 19: 407-410, (1999).
50. Yu, X., Kajiyama, F., Iguchi, K., Mochizuki, T., Hoshino, M., Jun, L., Lou, W. Q., Yanaihara, N., Winart, A. and Iwanaga, T. Development of region-

- specific radioimmunoassay against rat prosecretin and their characterization. *Biomed. Res.*, 20: 15-26, (1999).
51. Kanno, T., Asada, N., Yanase, H., Iwanaga, T., Ozaki, T., Nishikawa, Y., Iguchi, K., Mochizuki, T., Hoshino, M., and Yanaihara, N. Salivary secretion of highly concentrated chromogranin A in response to noradrenaline and acetylcholine in isolated and perfused rat submandibular glands. *Experimental Physiology*, 84: 1073-1083, (1999).
52. Ji, Y-H., Li, Y-J., Zhang, J-W., Song, B-L., Yamaki, T., Mochiozuki, T., Hoshino, M., and Yanaihara, N. Covalent structures of BmK AS and BmK AS-1, two novel bioactive polypeptides purified from chinese scorpion *Buthus martensi* Karsch. *Toxicon*. 37: 519-536, (1999).
53. Yamaki, T., Mochizuki, T., Ogata, M., Iguchi, K., Yanaihara, N., and Hoshino, M. ACTH-releasing activity and cAMP accumulation of rat urocortin-related peptides in pituitary corticotropic cells. *Biomed. Res.*, (in press).
54. Kajiyama, F., Mukaiyama, S., Watanabe, Y., Ogata, M., Iguchi, K., Mochizuki, T., and Hoshino, M. Effect of galanin(15-29)-related peptides on glucose-induced insulin release from isolated perfused rat pancreas. *Biomed. Res.*, (in press).

G. 知的所有権の取得状況

1 特許取得

なし

新しいがん治療技術開発のための基礎的・臨床的研究
分担研究者 山口 建 国立がんセンター研究所副所長

研究要旨 難治がんの治癒、がんの再発防止に役立つ新しいがん診療技術を開発し、我が国におけるがん治療成績の向上を図ることが本研究の目的であるが、この分担研究課題では、遺伝性高発がん家系のうち、多内分泌腺腫瘍症1型、2型に関し、原因遺伝子の変異と臨床病態との関連について研究を進め、特に2型については遺伝子診断に基づく診療ガイドラインの作成を試みた。新しいがん免疫療法については、悪性黒色腫を対象に、腫瘍ペプチド特異的な細胞障害性T細胞の誘導を検討し、合成ペプチドMAGE-3、GP-100をはじめ、数種のペプチドがHLA-A2のみならず日本人に多いA-24拘束性の特異的な細胞障害性T細胞の誘導活性をも示す事を確認した。

A. 研究目的

家族性腫瘍症候群家系である多内分泌腺腫瘍症1及び2型の遺伝子診断法と、それを用いた早期発見、早期治療法を確立するために、1型、2型ともに多数例について遺伝子診断結果を解析し、その有用性を検討する。また、2型については、甲状腺髄様がんに対する予防的甲状腺摘出手術に関連し、患者、家族、医療関係者が、遺伝子診断の持つ特殊性を理解し、生命予後や心理的、経済的、倫理的影響などについて、遺伝カウンセリングまでを含め、より良い診療が可能となるよう、遺伝子診断結果に基づく診療ガイドラインの作成を試みる。

新しい細胞免疫療法としては、悪性黒色腫及び膀胱がんを標的とし、強い抗原提示機能を持ち、抗腫瘍性T細胞を誘導しうる樹状細胞を利用した、有効性の高い免疫療法の臨床開発に向けた臨床前研究を開始した。

B. 研究方法

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

がんの遺伝子診断の臨床応用については、本邦のMEN1型の23家系とMEN2型の55家系について、それぞれの原因遺伝子であるMEN1及びRETの胚細胞変異の分析技術を確立し、変異様式と臨床病態との関連を検討し、さらに、遺伝子情報を、保因者診断などに生かすための研究を行った。また、MEN2型に関しては、遺伝子診断結果に基づくMEN2患者の診療のための指針として、「MEN2型の遺伝子診断及びそれを用いた診療のガイドライン」の作成を試みた。

(2) 新しい免疫療法開発に関する研究

ヒト末梢血由来樹状細胞培養系を確立し、悪性黒色腫関連腫瘍ペプチド特異的な細胞障害性T細胞の誘導を検討した。健康人ヒト末梢血より単核球を分離後、ヒトGM-CSFとIL-4の存

在下に培養し、樹状細胞を得た。培養した樹状細胞を悪性黒色腫関連合成ペプチドでパルスした後、健康人ヒトT細胞と混合培養を行い、細胞障害性T細胞の誘導を検討した。

(倫理面への配慮)

遺伝子診断については、患者の診療にあたる施設の倫理審査委員会等の承認とインフォームド・コンセントを得た上で行った。さらに、解析結果は担当医のみに報告し、情報の漏洩については細心の注意を払った。

C. 研究結果

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

本邦のMEN1型の23家系とMEN2型の55家系について、それぞれの原因遺伝子であるMEN1及びRETの胚細胞変異について分析し、MEN1型の20家系(87%)、MEN2型の53家系(96%)において変異を明らかにした。さらに、MEN1型については、MEN1遺伝子の低表現度・低浸透率の変異が家族性副甲状腺機能亢進症を惹起することを示す症例を発見した。MEN2型については、悪性度が高くまた95%の症例でM918Tの胚細胞性変異が認められるMEN2B型症例において、V804Mの変異にY806Cの新規な変異が同一アレル上に加わっている症例を発見した。

「MEN2の遺伝子診断及びそれを用いた診療のガイドライン(案)」については、他の分担研究者と共同で、主として遺伝子診断法の精度を中心としたデータ分析と情報収集とに努めた。この結果、1) MEN2型患者及びMEN2型が疑われる患者においては、RET遺伝子診断を行うことにより本症の確実な診断が可能であり、遺伝子診断は臨床的に有用と考えられること、2) RET遺伝子変異が明らかになった患者の血縁者においては遺伝子検査を行うことによりMEN2型の保因者診断が可能であ

り、その結果、確実な早期発見、早期治療が期待できること、などを本邦症例の分析結果を基に明らかにした。以上を踏まえ、ガイドライン原案が作成され、MEN2型の専門医、生命倫理学者、遺伝カウンセリングの専門家などによる検討が行われた。

(2) 新しい免疫療法の開発

健康人ヒト末梢血より単核球を分離後、ヒトgranulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF)とinterleukin (IL)-4の存在下に1週間培養を行い、樹状細胞を得た。1x10⁷単核球より8.18±2.8x10⁵ (平均8.2%)の樹状細胞が得られた。表面マーカーの解析では成熟した樹状細胞の表現型であった。培養した樹状細胞をメラノーマ関連合成腫瘍ペプチドでパルスした後、健康人ヒトT細胞と混合培養を行い、低濃度のヒトIL-2の存在下に細胞障害性T細胞の誘導を行った。現在までに数種の合成ペプチドがそれぞれHLA-A2およびA-24拘束性の特異的細胞障害性T細胞の誘導活性を示すことを明らかにした。

樹状細胞へのサイトカイン遺伝子導入による免疫療法についても検討を試みた。C57BL/6マウス骨髄幹細胞より培養した樹状細胞にレトロウイルスベクターを用いてマウスIL-12遺伝子の導入を行った。この細胞からは1x10⁶あたり48時間で、34ngのIL-12 p70タンパクの産生を確認した。抗腫瘍効果の検討については、マウス皮下に移植された7日目のメラノーマ腫瘍にgreen fluorescence protein (GFP)またはIL-12遺伝子を導入した樹状細胞を投与した。IL-12 遺伝子導入した樹状細胞投与群では、著明に腫瘍の増殖が抑制された。

D. 考察

(1) がんの遺伝子診断に関する研究

遺伝性がんは、ある個人について未来の発症を予測し、さらに1人の遺伝子分析結果が、血縁者全員に影響を及ぼすという点で、従来の医療にはない新たな側面を有している。本研究では、遺伝性がんの一つであるMEN1型、2型を対象に、遺伝子診断技術の改良と、それを用いた早期発見、早期治療法を検討してきた。この結果、現在の解析技術では、1型で87%、2型で96%の診断が可能となったが、より診断精度を上げるため、現在の技術では、原因遺伝子の異常を発見し得ない家系についての分析を進め、従来、遺伝子多型と考えられていた変異が疾病を引き起こすこと、穏やかな病態を引き起こす低浸透度性の変異が存在すること、従来の方法では検出が困難な遺伝子の領域欠失が病因になる家系が存在すること、などを明らかにしてきた。これらの成績は、MEN1型、2型の病態解明のみならず、他の遺伝性がんの病態解明や現在は遺伝が関係していない

と考えられている散発性がんにおける遺伝的素因の解明に役立つ結果と考えられる。なお、これらの結果と我が国におけるMEN2型患者に関する実態調査結果を基に、遺伝子診断を用いた診療ガイドラインの作成を試みたが、現在、科学技術会議及び厚生省において遺伝子解析研究のための研究指針の作成が進められおり、本研究においてもこれらの研究指針との整合性に配慮しながら最終的な案を作成する予定である。

(2) がんの新しい免疫療法に関する研究

新しいがんの免疫療法の開発にあたっては、エフェクター細胞の活性化に不可欠な抗原提示細胞として従来の単球・マクロファージより強力な樹状細胞の役割に注目し、樹状細胞を用いる治療法の臨床開発を目標としている。すでに、他の分担研究者により、進行期の前立腺がんを対象とした腫瘍特異抗原ペプチドパルス刺激樹状細胞による免疫療法が試みられているが、本研究においては、まず悪性黒色腫について、作成を終えた10種類の悪性黒色腫関連腫瘍ペプチドを用い、それらによってパルス刺激された特異的な細胞障害性T細胞の誘導による樹状細胞療法臨床開発を行う。また、膵がんについてもMUC1ペプチドを用いた樹状細胞療法の検討を開始し、ハムスター膵がんモデルを用いた臨床前試験を実施する。さらに、サイトカイン導入樹状細胞を用いる遺伝子療法に関しては、IL-12遺伝子導入モデルを中心に動物モデルによる抗腫瘍活性の検討を進めていく。

E. 結論

MEN1型及び2型については、臨床応用可能な精度の高い遺伝子診断技術を確立した。今後、他の遺伝性高発がん家系について、遺伝子大領域欠失、低浸透度変異の可能性を検討するとともに、これらの病態における遺伝子診断に関する倫理的・法的・社会的諸問題への対策の一つとして、遺伝子診断に基づく診療ガイドラインの作成を進める必要がある。

がんの免疫療法については、メラノーマや膵がんを対象としたがん特異的抗原パルス樹状細胞療法の臨床前試験を実施する段階を迎えた。

F. 研究発表

論文発表

1. Miyauchi, A., Futami, H., Hai, N., Yokozawa, T., Kuma, K., Aoki, N., Kosugi, S., Sugano, K. and Yamaguchi, K. Two germline missense mutation at codon 804 and 806 of the RET proto-oncogene in the same allele in a patient with multiple endocrine neoplasia type 2B without codon 918 mutation. *Jpn. J. Cancer Res.*, 90:

- 1-5, (1999).
2. Nagasaki, K., Maass, N., Manabe, T., Hanzawa, H., Tsukada, T., Kikuchi, K., and Yamaguchi, K. Identification of a novel gene, DAM1, amplified at chromosome 1p13.3-21 region in human breast cancer cell lines. *Cancer Lett.*, 140: 219-226, (1999).
 3. Nagasaki, K., Manabe, T., Hanzawa, H., Maass, N., Tsukada, T., and Yamaguchi, K. Identification of a novel gene, LDOC1, down-regulated in cancer cell lines. *Cancer Lett.*, 140: 227-234, (1999).
 4. Nagasaki, K., Sasaki, K., Maass, N., Tsukada, T., Hanzawa, H., and Yamaguchi, K. Staurosporine enhances cAMP-induced expression of neural-specific gene VGF and tyrosine hydroxylase. *Neurosci. Lett.*, 267: 177-180, (1999).
 5. Ohkura, N., Hosono, T., Maruyama, K., Tsukada, T., Yamaguchi, K. An isoform of Nurr1 functions as a negative inhibitor of the NGFI-B family signaling. *Biochim. Biophys. Acta.*, 1444: 69-79, (1999).
 6. Maruyama, K., Tsukada, T., Hosono, T., Ohkura, N., Kishi, M., Honda, M., Nara-Ashizawa, N., Nagasaki, K. and Yamaguchi, K. Structure and distribution of rat menin mRNA. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 156: 25-33, (1999).
 7. Kishi, M., Tsukada, T., Shimizu, S., Hosono, K., Ohkubo, T., Kosuge, T., Sugano, K., Kanbe, M., Obara, T. and Yamaguchi, K. A novel splicing mutation (894 9 G→A) of the MEN1 gene responsible for multiple endocrine neoplasia type 1. *Cancer Lett.*, 142: 105-110, (1999).
 8. Hosono, T., Tsukada, T., Maruyama, K., Kishi, M., Ohkura, N., Sasaki, K., Nara-Ashizawa, N., Iwanaga, T., Yanaihara, N., Kameya, T. and Yamaguchi, K. Antisera against human menin applicable to immunoblotting and immunocytochemistry. *Biomed. Res.*, 20:51-55, (1999).
 9. Stieber, P., Dienemann, H., Schalthorn, A., Schmitt, U.M., Reinmiedl, J., Hofmann, K., Yamaguchi, K. Pro-gastrin-releasing peptide (ProGRP) - a useful marker in small cell lung carcinomas. *Anticancer Res.*, 19: 2673-2678, (1999).
 10. Kurata, N., Kuwabara, T., Tanii, H., Fuse, E., Akiyama, T., Akinaga, S., Koboyashi, H., Yamaguchi, K. and Kobayashi, S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of a novel protein kinase inhibitor, UCN-01. *Cancer Pharmacol.*, 44: 12-18, (1999).
 11. Manabe, T., Fukuda, K., Pan, J., Nagasaki, K., Yamaguchi, K. and Ogawa, S. Hypertrophic stimuli augment expression of cMG1/ERF-1, a putative zinc-finger motif transcription factor, in rat cardiomyocytes. *FEBS Lett.*, 463: 39-42, (1999).
 12. Ohkura, N., Hosono, T., Maruyama, K., Tsukada, T. and Yamaguchi, K. The human NGFI-B gene gives rise to two isoforms with different expression profiles. *Biomed. Res.*, 20: 213-218, (1999).
 13. Kusuhara, M., Nagasaki, K., Kimura, K., Maass, N., manabe, T., Ishikawa, S., Aikawa, M., Miyazaki, K. and Yamaguchi, K. Cloning of hexamethylene-bis-acetamide-inducible transcript, HEXIMI, in human vascular smooth muscle cells. *Biomed. Res.*, 20: 273-379, (1999).
 14. Honda, M., Tsukada, T., Tanaka, H., Maruyama, K., Yamaguchi, K., Obara, T., Yamaji, T. and Ishibashi, M. : A novel mutation of the MEN1 gene in a Japanese kindred with familial isolated primary hyperparathyroidism. *Eur. J. Endocrinol.*, 142: 138-143, (1999).
- G. 知的所有権の取得状況
- 1 特許取得
なし

厚生省科学研究費補助金（厚生省がん克服研究事業）

平成 11 年度・分担研究報告書

「がんの免疫治療のために有効なエフェクター細胞の開発に関する研究」

分担研究者 若杉 尋

国立がんセンター研究所・薬効試験部長

研究要旨

1) マウスの系で NK 様 T 細胞株 tMK-2 を樹立、自家発がんの予防と治療に有効であることを示した。2) tMK-2 細胞を免疫源として U5A2-13 抗体を樹立し、発現型と KRN7000 に依る活性化の結果から C57BL/6 マウス以外の系統のマウスにも NK 様 T 細胞が存在することを証明し、U5A2-13 陽性 T 細胞が、がんの転移に関与することを示した。3) ヒト NK 細胞を認識する抗体 JNK-1,9F9-1 を作成し、またヒト NK 様 T 細胞の一部と考えられている TCR V α 24 陽性 T 細胞を KRN7000 により短期間で一挙に 1000 倍程度増殖させる方法を開発した。4) NK 様 T 細胞の樹状細胞及び樹状細胞由来 exosome に依る活性化を見いだした。

A. 研究目的

CTL, NK, NKT 細胞や DC 等の免疫担当細胞の役割を総合的に解析し、理論に基づいた細胞免疫療法体系を樹立し、がんの治療法の確立に貢献することを本研究の目的とする。

B. 研究方法

U5A2-13 モノクローナル抗体を始め市販のマウスヒトリンパ球表面抗原に対するモノクローナル抗体を用いて NK 様 T 細胞の表現型を解析する。FACS analyzer や Cell sorter、MACS 大量細胞磁気分離装置などを用いて純化細胞を分離し、抗腫瘍活性などの機能を解析する。NK 様 T 細胞のプレカーサ細胞の同定を行う。リンパ球のソースとしてマウスの系では C57BL/6, BALB/c, C3H/He 等の系統のマウスを用い、ヒトの時は健常人末梢血やがん患者末梢血を用いる。がん細胞は B16 メラノーマや K562 などの細胞株を用いる。細胞培養は RPMI-1640 培地を用い、CO₂ incubator 内で培養する。実験操作はクリーンベンチ内

で行い、マウスの維持は SPF 条件下の動物飼育室で行う。樹状細胞は抗体を用いて精製後、GM-CSF, IL-4, TNF などのサイトカインと培養し成熟させた後、exosome を精製する。NK 様 T 細胞の刺激には抗 CD3 抗体や α -galactocylceramide などを用いる。

C. 研究結果

1) NK 様 T 細胞株 tMK-2 を樹立した。2) これらの細胞の投与がメチルコラントレンによる自家発がんの発生を完全に予防するのみならず、発生した腫瘍の治療に極めて有効に働くことを示した。3) これらの細胞を免疫し、マウスの系統を越えて NK 様 T カウンターパート細胞を認識できるラット・モノクローナル抗体、U5A2-13 を樹立した。4) NK1.1 抗体で認識される T 細胞群とほぼ一致する細胞群を U5A2-13 抗体は認識する。5) U5A2-13 抗体が認識する T 細胞は IL-4/IFN γ を産生可能なユニークな細胞集団である。以上の表現型の解析および機能解析の結果から

C57BL/6 系統マウス以外にも NK 様 T 細胞と同様な細胞群が存在することを証明した。

6) USA2-13 抗体をマウスに静注するとマウス体内から USA2-13 陽性 T 細胞を除去できる。この条件下でメラノーマ細胞を注射して肝臓または肺に転移させると USA2-13 陽性細胞を除去しないコントロールに比べて有意に転移結節数が増加することを明らかにし、USA2-13 陽性 T 細胞はがんの増殖や転移に深く関与する細胞群であることを示した。

ヒト CD56 陽性 T 細胞および CD57 陽性 T 細胞をマウスに免疫し不均一な細胞群であるヒト NK マーカー陽性 T 細胞を包括的に認識できる 9F9-1 抗体を樹立した。IgG1 サブクラスの抗 CD57 抗体を樹立した。

ヒト NK 様 T 細胞の一部を構成すると考えられる TCRV α 24 陽性 T 細胞を α -galactosylceramide の存在下で培養すると培養開始 10 日前後の短期培養期間中に細胞を約 1000 倍程度増殖させ得ることを発見し、NK 様 T 細胞療法の臨床応用の可能性を示した。このプレカーサ細胞が CD14 陰性細胞に含まれ、CD14 陽性細胞の補助の元に TCRV α 24 陽性 T 細胞に成熟することを見いだした。

D. 考察

がん細胞に対する免疫担当エフェクター細胞として従来から細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte; CTL) と natural killer (NK) 細胞が考えられてきた。これらの細胞の T 細胞受容体と NK 細胞受容体による腫瘍細胞の認識と傷害機構は最近になり分子レベルで急速に明らかになりつつある。又最近 T 細胞受容体と NK 細胞受容体を同時に発現している NK 様 T 細胞の存在が明らかにされた。NK 様 T 細胞はその強力な抗腫瘍能と MHC クラス I

類似の分子である CD1 抗原を介して糖脂質を認識するというユニークな細胞として最近広く免疫学者や腫瘍学者の注目を浴びるようになった。さらにエフェクター細胞の活性化に不可欠な抗原提示細胞として従来の単球・マクロファージより強力な樹状細胞 (dendritic cell; DC) の役割が注目を集めるに至っている。我々はこれらの免疫担当細胞のうち、特に NK 様 T 細胞に注目して研究してきた。これまでのわれわれの成果は樹状細胞により NK 様 T 細胞の強力な抗腫瘍活性を示すことが出来、又 NK 様 T 細胞療法の臨床応用の可能性を示し得たと考える。

E. 結論

これまでの研究成果として 1) NK 様 T 細胞株 tMK-2 を樹立し、2) これらの細胞が自家発がんの治療と予防に有効に働くことを示し、3) tMK-2 細胞を免疫源として USA2-13 抗体を樹立し、C57BL/6 マウス以外の系統のマウスにも NK 様 T 細胞が存在することを証明し、USA2-13 陽性 T 細胞が、がんの転移に関与することを示した。2) 不均一な細胞群であるヒト NK 様 T 細胞を包括的に認識できる 9F9-1 抗体を樹立した。IgG1 サブクラスの CD57 抗体を樹立した。3) 樹状細胞及び樹状細胞由来 exosome が直接に NK 様 T 細胞を活性化できることを示した。4) ヒト NK 様 T 細胞の一部と考えられている TCRV α 24 陽性 T 細胞を短期間で一挙に 1000 倍程度増殖させる方法を開発した。以上の結果から、NK 様 T 細胞を用いたがん免疫療法の臨床応用の可能性を示すことができたことを確信する。

F. 研究発表

1. 論文発表

Wakasugi, H., Yamaguchi, N. :
Teleconferences between the Gustave-
Roussy Institute (Villejuif, France) and the
National Cancer Center (Tokyo, Japan) as a
New Bilateral Cooperative Activity. *JJCR*,
91 : 135-137(2000).

Wakasugi, H., Miyazaki, K., Maruoka,
H., Kato, K., Miyata, M., Sugimura, T.,
Terada, M. : Regression and prevention of
autochthonous tumors induced by 3-
methylcholanthrene after injection of a T-cell
receptor alpha / beta positive and CD4/CD8
double negative T-cells. *Immunol. Lett.*,
69 : 329-337(1999).

Shinohara, K., Ikarashi, K., Maruoka,
H., Miyata, M., Sugimura, T., Terada, M.,
and Wakasugi, H. : Functional and
phenotypical characteristics of hepatic NK-
like T cells in NK1.1-positive and -negative
mouse strains. *European J. of Immunol.*,
29 : 1871-1878 (1999).

Miyazaki, K., Noda, N., Terada, M.,
Wakasugi, H. : Elevated Serum Levels of
Thioredoxin in Patients with Chronic and / or
Malignant Liver Diseases. MARCEL
DEKKER, INC. 「Redox Regulation of Cell
Signaling and Its Clinical Application」 :
235-250(1999).

2. 学会発表

日本リンパ網内系学会総会

- ・ 今後の癌の細胞治療 -特に DC を用い
て- : 若杉 尋. (口演)

第3回基盤的癌免疫研究会総会

- ・ SART-1 ペプチドによるサブタイプの異
なる HLA-A26 陽性健常人及び癌患者末
梢血リンパ球からの CTL の誘導 : 井上
佳子. 中尾 真修. 松永 和子. 菊池 慈.
山名 秀明. 若杉 尋. 伊東 恭悟. (口
演)

- ・ 胸腺の NK 様 T 細胞は U5A2-13 抗原を
ほとんど発現しない : 白川 一男. 丸岡
秀範. 五十嵐 美德. 東 正人. 宮田 道
男. 若杉 尋. (口演)

第58回日本癌学会総会

- ・ U5A2-13 陽性 T 細胞は樹状細胞による
 α -galactosylceramide の提示により活性
化される : 東 正人. 五十嵐 美德. 浅
田 留美子. 篠原 浩一. 丸岡 秀範. 中
村 浩明. 斉藤 厚. 若杉 尋. (口演)
- ・ 新しいアデノウイルスベクターによる
樹状細胞への遺伝子導入 : 浅田-三上 留
美子. 東 正人. 高上 洋一. CURIEL
David T. 平家 勇司. 若杉 尋. (示
説)

レドックス 99 京都シンポジウム

- ・ N. Noda, A. Ochiai, K. Miyazaki,
T. Sugimura, M. Terada, and H. Wakasugi.
Detection of Thioredoxin in Gastric Cancer:
Association with Histological Type.
International Symposium for Oxidative
Stress, Redox Regulation and Signal
Transduction; Clinical Implications.

第29回日本免疫学会総会

- ・ 全身性自己免疫性疾患における可溶性
CD40 リガンドの過剰産生 : 加藤 和則.
田村 直人. 小林 茂人. 橋本 博史. 若
杉 尋. Thomas Kipps. (示説)

- ・ NK1.1 陽性及び陰性マウス由来 U5A2-13
陽性 T 細胞によるサイトカイン産生能

- の検討：東 正人、加藤 和則、五十嵐 美德、浅田 留美子、白川 一男、井上佳子、平家 勇司、丸岡 秀範、篠原 浩一、斎藤 厚、若杉 尋（示説）
- ・モノクローナル抗体 USA2-13 を用いたマウス NKT 細胞のサブセット解析：篠原 浩一、丸岡 秀範、五十嵐 美德、東 正人、宮田 道夫、若杉 尋（示説）
 - ・PAP 由来 HLA-A2402 結合生ペプチドを用いた前立腺癌特異的 T 細胞の誘導：井上 佳子、加藤 和則、武井 正夫、高上 洋一、垣添 忠生、伊東 恭悟、若杉 尋（示説）
 - ・RGD アデノウイルスベクターを用いた樹状細胞への遺伝子導入効率の検討：浅田-三上 留美子、平家 勇司、DAVID T. CURIEL、若杉 尋（示説）
 - ・ヒト NK 細胞を認識する新しいモノクローナル抗体(9F9-1)の樹立と解析：田島 順子、平家 勇司、加藤 和則、笠原 忠、若杉 尋（口演）

G. 知的所有権の取得状況

なし

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
平成11年度分担研究報告書

「新規抗悪性腫瘍薬の臨床評価方法について」

分担研究者：佐々木康綱 国立がんセンター東病院 医長

研究要旨

Staurosporine 誘導体であるUCN-01は、蛋白質リン酸化酵素が細胞増殖に重要な役割を果たすと考えられる種々のがん遺伝子が活性化された腫瘍細胞に対して、抗腫瘍効果を示す。本剤の抗腫瘍活性は、①Protein kinase C(PKC)の阻害、②CDK2Rb kinaseなどを通じてG1/S期期に選択的に作用し、apoptosisを誘導することにあると理解されている。このように新しい構造と作用機序を有する本剤の臨床第I相試験を施行した。

A. 研究目的

中心静脈を用いたUCN-01の3時間点滴静注法による最大耐量と至適投与量の決定、容量規制毒性の評価、薬物動態解析を目的とした。さらに、抗腫瘍効果の推定を行った。

B. 研究方法

0.65 mg/sqm/3hrを初回投与量として参時間静注法によるUCN-01の投与を行った。各投与レベルに1-7例の症例を登録することにより容量規制毒性を評価した。さらに各症例ごとに血中薬物濃度の経時的測定を行った。また同時期に米国で進行中の72時間点滴法による第I相試験との結果の比較を行った。

C. 研究結果

0.65 mg/sqm/3hrより90.4 mg/sqm/3hrまでの増量が可能であった。この間各種悪

性腫瘍患者30症例が登録された。用量規制毒性としては肝障害、悪心嘔吐、アミラーゼ上昇、血圧上昇を認めた。さらに用量規制毒性には至らないもののgrade2以上の毒性としては、耐糖能異常を認めた。また本剤投与との可能性は否定されたものの、1例に致命的肺炎を認めた。以上により最大耐量及び至適投与量は、90.4 mg/sqm/3hr以上であると考えられた。薬物動態では本剤は極めて緩やかに血中から消失し、消失相の半減期は319-8,650時間であった。これは、本剤がalpha 1 acidglucoproteinと強い結合をすることにより、全身クリアランスが異常に小さくなることに起因していると考えられる。このため継続投与にあたっては2回目以降の投与量を初回投与量の50%に抑えることにより、蓄積的な血中濃度上昇を予防した。投与薬剤量と最高血中濃度もしくはAUCの間には線形性を認めた。子宮原発平滑筋肉腫及び結腸がん症例各1例ずつに腫瘍縮小を観察し、本投与量範囲で治療

域に入っていることが推定された。一方72時間持続点滴静注法による米国の第I相試験では、最大耐量が128 mg/sqm/72hrに決定され、用量規制毒性として血糖値上昇、低血圧が報告された。

D. 考察

前臨床試験の成績によれば、本剤の抗腫瘍効果はcytostatic effectであると考えられていたが、現実に腫瘍縮小を観察したことは、将来に向けて殺細胞性に作用する抗がん剤との併用療法に期待を抱かせるものである。また消失相の半減期が予想外に長く、長時間にわたって血中内にとどまっていることは、必ずしも米国の試験で行われた長時間にわたる持続点滴法による投与が必要でないことを強く示唆する結果であった。

E. 結論

3時間静注法によるUCN-01の投与時の最大耐量及び至適投与量は、90.4 mg/sqm/3hr以上であると考えられた。

F. 研究発表

1. 論文発表

本研究の臨床成績は固定されていないために未だ論文の執筆には至っていない。

1. Tokuda, Y., Watanabe, T., Omuro, Y., Ando, M., Katsumata, N., Okumura, A., Ohta, M., Hujii, H., Sasaki, Y., Niwa, T., Tajima, T. : Dose escalation and pharmacokinetic study of a humanized anti-

her2 monoclonal antibody in patients with her2/neu-overexpressing metastatic breast cancer. *Brit. J. Cancer*, 81: 1419-1425, 1999.

2. Okada, S., Sakata, Y., Matsumoto, S., Kurihara, M., Sasaki, Y., Ohashi and Taguchi, T. for the Cooperative Group of Docetaxel for Pancreatic Cancer in Japan. : Phase II study of docetaxel in patients with metastatic pancreatic cancer: a Japanese cooperative study. *Brit. J. Cancer*, 80; 438-443, 1999.
3. Japanese Docetaxel Ovarian Cancer Study Group: Fujiwara, K., Kohno, I., Tanaka, K., Ogita, S., Sasaki, Y., Hirabayashi, K., Yakushiji, M., Tsunematsu, R., Ohashi, Y. and Noda, K. : Phase II dose escalation: a novel approach to balancing efficacy and toxicity of anticancer agents. *Anticancer Res.*, 19: 639-644, 1999.

G. 知的所有権の取得状況

とくになし。

厚生科学研究費補助金（がん克服戦略研究事業）
分担研究報告書

「陽子線治療におけるデジタル画像応用技術の開発」
分担研究者：荻野 尚 国立がんセンター東病院 放射線部医長

研究要旨

陽子線治療におけるデジタル画像の応用技術の開発として、治療計画に用いるX線CT画像より再構成するデジタル化再構成画像（DRR: digitally reconstructed radiograph）の高精細化のための再構成計算アルゴリズムの開発を行った。その結果、空間分解能に寄与する因子が明らかとなり、密度分解能の若干の向上が図られた。

A. 研究目的

デジタル化再構成画像（DRR: digitally reconstructed radiograph）は横断面CT像より、点焦点平面画像を再構成するものである。陽子線治療の治療計画がX線CTの横断面画像をもとに立てられるのに対して、毎回の位置照合は通常の胸部X線単純写真と同様な点焦点平面画像をもとに行われるためにその仲介としてDRR画像が必要となる。陽子線治療は腫瘍を狙い撃ちする照射法であるので、照射位置の高い正確性と再現性が要求される。しかし、従来のDRR画像は空間分解能ならびに密度分解能が劣り、よって治療計画と治療との間で位置ズレを生じる原因のひとつと考えられていた。

それを克服すべく高精細化と密度分解能向上を目的とした研究を行った。

B. 研究の方法

陽子線治療の位置照合の基準となるX線CT横断面画像より作成されるデジタル化再構成画像の作成のために、CT画像マトリックス数を256×256から512×512へ増やすことが空間分解能の向上に寄与するか否か検討した。

また、空間分解能ならびに密度分解

能向上のために新しい再構成計算アルゴリズムを開発した。ひとつは平面法（Plane weighting method）で、通過ボクセルのCT値を参照しながら計算する方法である。もうひとつは立体法（Solid weighting method）で、CTボクセルを5分割し、各分割ボクセルの仮想CT値は比例配分とし、通過距離線分比を掛けて重み付けする方法である。（倫理面への配慮）

当研究は機械開発研究であるため、開発にあたっては患者データ等を用いなかった。また、実際の評価の際に患者データを用いたが、患者識別情報等を排除する等の対処を取った。また、用いた臨床画像は当施設のみで使用し、外部での閲覧等を行わなかった。

C. 研究の成果

DRR再構成計算のマトリックス数を256×256から512×512へ増やしても、空間分解能の向上は得られなかった。

開発した新しい計算アルゴリズムのうち立体法により密度分解能の向上が図られた。

また、物理的に薄いCTスライス厚を用いることが体軸方向の空間分解能向上に直接寄与し、体軸方向の空間分