

20020841

厚生労働科学研究研究費補助金

基礎研究成果の臨床応用推進研究事業

難治固形癌に対する局所的ベクター投与による
遺伝子治療の基礎的・臨床的研究
(H14-トランス-011)

平成 14 年度 総括研究報告書

主任研究者 田中 紀章

平成 15 (2003) 年 4 月

目 次

I. 総括研究報告 難治固形癌に対する局所的ベクター投与による 遺伝子治療の基礎的・臨床的研究	1
II. 研究成果の刊行に関する一覧表	6
III. 研究成果の刊行物・別刷	8

難治性固形癌に対する局所的ベクター投与による遺伝子治療の基礎的・臨床的研究

主任研究者 田中紀章 岡山大学大学院医歯学総合研究科・消化器・腫瘍外科・教授

【研究要旨】 「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン(CDDP)を用いた遺伝子治療臨床研究」および「前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」の二つのプロトコールについて臨床応用を推進した。前者においては対象となる被験者は切除不能な p53 遺伝子に異常を持つ非小細胞肺癌患者であり、気管支内に突出する腫瘍を有する場合は気管支鏡下に、また末梢型の腫瘍を認める場合は CT ガイド下穿刺により腫瘍部位に微細穿刺針を用いて正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター Ad5CMVp53 液を注入する。本研究は 4 施設の共同研究の形で進めており、現在までに 14 例の被験者への投与を行い、もう 1 例で第 I 相臨床試験を終了する予定である。6 例ではシスプラチン (CDDP) の全身投与も併用した。最も多くみられた副作用は一過性の発熱のみであり、症例によっては腫瘍縮小がみられ、局所的には癌細胞のアポトーシス誘導が組織学的に確認された。Ad5CMV-p53 投与後に血中抗アデノウイルス中和抗体価は全例で上昇したが、治療後の生検サンプルを用いた RT-PCR 解析では、p53 mRNA 発現は経過中維持される症例がほとんどであった。また、遺伝子治療後に放射線治療を行った 1 例は長期生存が得られており、放射線療法との併用が有効である可能性が示された。HSV-tK/ガンシクロビル遺伝子治療は、3 例の進行前立腺癌患者に行われており、安全に施行可能であることが確かめられた。腫瘍マーカー PSA の変化に関しては、3 例中 1 例で低下、1 例で上昇抑制が確認され、臨床的有用性が示された。治療後の生検サンプルでは HSV-tK 遺伝子の発現が確認された。これらの臨床応用をすすめる上で重要な根拠となる基礎研究も行っており、p53 遺伝子導入後の生検サンプルを用いたリアルタイム PCR 解析にて、アポトーシス関連遺伝子 (Noxa, p53AIP1 など) の発現上昇が認められた。治療期間を通じて p53 標的遺伝子発現は維持されており、治療耐性はアデノウイルス感染効率の低下に由来するものではないことが明らかになった。

分担研究者：

衛藤義勝（慈恵会医科大学・DNA 医学研究所）
加藤治文（東京医科大学・外科学第一講座）
貫和敏博（東北大学・加齢医学研究所）
公文裕己（岡山大学大学院医歯学総合研究科・
泌尿器病態学講座）
吉村邦彦（慈恵会医科大学・DNA 医学研究所）
中村治彦（東京医科大学・外科学第一講座）
西條康夫（東北大学医学部・附属病院）
那須保友（岡山大学医学部・附属病院）
藤原俊義（岡山大学医学部・附属病院）

所投与と DNA 障害性抗癌剤シスプラチンの全身投与による安全性および治療効果を検討することである。また、切除不能な局所進行前立腺癌症例において、HSV-tK 遺伝子発現アデノウイルスベクターの腫瘍内局所投与とガンシクロビルの全身投与による安全性および治療効果を検討する。臨床的には腫瘍縮小などの局所効果が期待され、閉塞性肺炎の改善や排尿困難の軽減、疼痛の緩解などの QOL (quality of life) の向上も認められる可能性がある。さらに、肺癌と前立腺癌という異なった標的臓器への投与の差を、ベクターの全身分布などを検討して比較する。これらの研究は難治固形癌の代表である非小細胞肺癌、前立腺癌の新しい治療戦略を開発する上での breakthrough となる可能性がある。

A. 研究目的

本邦における肺癌患者の発生率は依然増加を続けており、全肺癌の約 80% を占める非小細胞肺癌では診断時に周辺リンパ節や隣接臓器への浸潤のため根治切除不能となる進行癌が多く、さらに初期治療後の再発症例では高頻度に外科的切除不可能である。また、ホルモン療法に不応性の進行前立腺癌では根治治療が極めて困難であり、これらの難治固形癌の治療成績の向上には集学的治療の進歩が不可欠である。本研究の目的は、まず切除不能な非小細胞肺癌症例において、正常な p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターの腫瘍内局

B. 研究方法

【基礎研究】p53 により誘導されるアポトーシスの分子レベルでのメカニズムを解析し、より効果的なアポトーシス誘導の可能性を検討する。具体的には、p53 の標的遺伝子発現をリアルタイム RT-PCR を用いて定量的に測定する。p53 の標的遺伝子である p21 遺伝子プロモーターにより駆動する GFP 発現プラスミドを導入した肺癌細胞を樹立した。樹立細胞によるマウス皮下腫瘍に *in vivo* で p53 遺伝子導入後、高感度蛍光感知カメラにて蛍光光度の変化を経時的に観察し、簡便かつ非侵襲的な方法で腫瘍内での p53 転写活性をリアルタイ

ムに可視化する。また、p53 遺伝子導入により抗癌剤感受性が増強する作用機構を検討する。さらに、p53 を蛋白質レベルで安定化させる作用を有する p14^{ARF} 遺伝子発現アデノウイルスベクターとの併用効果を *in vitro* および *in vivo* で検討し、p53 遺伝子導入の抗腫瘍効果を選択的に増強する strategy を確立する。マウスを用いた胸膜播種モデルを作成し、進行肺癌において重要な進展形式である胸膜播種の治療戦略を検討する。さらに、p53 遺伝子治療における耐性機構の解析のため、p53 遺伝子導入に耐性を獲得した肺癌細胞の CoxSackey・アデノウイルス受容体 (CAR) の発現を定量した。

【臨床研究】岡山大学医学部附属病院を中心に、慈恵会医科大学、東京医科大学、東北大学加齢医学研究所の 4 施設の研究として「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチンを用いた遺伝子治療臨床研究」を進める。被験者は切除不能の非小細胞肺癌患者で、気管支鏡下に、あるいはコンピュータド・トモグラフィ(CT)ガイド下穿刺により腫瘍にベクター液を注入する。ベクター単独投与を行う第 1 群とベクターとシスプラチンを併用する第 2 群を設定し、合計で 15 症例に試みる。各レベル、各群で安全性および治療効果を観察し、生検材料や喀痰、尿などの体液を用いた組織学的、分子生物学的解析を行い、基礎研究での結果が臨床的に反映されているかどうかを検討する。具体的には、喀痰、尿、血漿、生検組織から DNA-PCR 解析を行い、ベクターの存在を確認する。また、治療前後の生検組織から抽出した RNA から RT-PCR 解析を行い、導入された p53 遺伝子発現を検討する。さらに、治療前後の血中抗アデノウイルス中和抗体価および抗 p53 抗体価を測定し、ベクターの免疫原性について考察する。岡山大学医学部附属病院 泌尿器病態学講座を中心に「前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」を進める。HSV-1K 遺伝子発現アデノウイルスベクター(初期量 10⁹ PFU) を経直腸的エコーガイド下に進行前立腺癌組織内に注入し、その 24 時間後から抗ウイルス薬であるガンシクロビル 5 mg/kg を 2 回/日、14 日間全身投与する。安全性、臨床的効果を観察するとともに、治療後の生検組織を用いて HSV-1K 遺伝子発現を検討する。ベクター量は 10 倍ずつ増量して 10¹¹ PFU まで検討し、目標症例数は 15 例とする。

(倫理面への配慮)

被験者へのインフォームドコンセントのために作成した文書は新 GCP に乗っ取って作成されており、治療遺伝子やベクターに関しても図を多用してできるだけ平易な言葉で説明している。また、米国で進行中の臨床試験の安全性や治療効果の情報も網羅されている。本研究の「実施計画書」および「説明と同意書」は、各施設の遺伝子治療臨床研究審査委員会で承認されており、また厚生省先端医療技術評価部会および文部省遺伝子治療臨床研究専門委員会が倫理的妥当性について了承されている。

C. 研究結果

【基礎研究】

1) p53 遺伝子導入によるアポトーシス誘導機構の解析：ヒト大腸癌細胞株に p53 遺伝子を過剰発現させるとアポトーシスが生じる。その過程で、アポトーシス抑制因子である FLIP の mRNA 発現は変化しないにもかかわらず、蛋白質レベルでは減弱することを明らかにした。プロテアソーム阻害剤で前処置することで

p53 による FLIP の発現低下は抑制され、これは p53 遺伝子発現により蛋白質分解機構であるユビキチン-プロテアソーム経路が活性化し、その結果 FLIP 蛋白質の分解が進むためと考えられた。また、ヒト大腸癌細胞に p53 遺伝子導入を行うと、早期から cyclin D1 蛋白質レベルが上昇した。一方、抗癌剤処理によりヒト癌細胞の cyclin D1 遺伝子発現は減弱することを確認した。cyclin D1 は抗癌剤感受性に関与しており、cyclin D1 遺伝子導入により癌細胞の抗癌剤感受性が亢進した。p53 遺伝子導入と抗癌剤を併用すると cyclin D1 発現は増強し、これは p53 による抗癌剤感受性増強の作用機構の一部と考えられた。p53 標的遺伝子である p21、MDM2、Noxa の発現は p53 遺伝子導入後 1 日目に最大となり、また遺伝子発現量は p21 が最大であった。投与後 2-3 日目にアポトーシスが最も多く誘導されていた。さらに、導入された p53 に反応して p21 プロモーターにより誘導された GFP 発現は 3 日目に最大となり 7 日目には著明に減弱していた。

2) 複合遺伝子治療の開発：p53 により発現が増強する癌遺伝子である MDM2 は、ユビキチン-プロテアソーム経路の E3 リガーゼとして p53 の急速な分解を促進する。細胞に DNA 傷害が加わると p53 の部位特異的リン酸化が生じ、MDM2 の結合が阻害され、分解が抑制されることで p53 の核内集積が観察される。MDM2 の発現は、p53 と ARF (alternating reading frame; ヒト p14^{ARF}、マウス p19^{ARF}) によってフィードバック制御されている。ARF は、サイクリン依存性キナーゼの阻害因子である細胞周期関連分子 p16^{INK4a} と多くの配列を共有する蛋白質である。最近、ARF が MDM2 に結合することでその E3 リガーゼ活性を抑制し、さらに MDM2 の核小体から細胞質への移行を阻害することで、p53 タンパク質を安定化することが明らかになった。p14^{ARF} 遺伝子発現アデノウイルスベクター (Ad-ARF) により外来性に p14^{ARF} タンパク質を発現させることで、内因性の正常な p53 あるいは外来性に導入した p53 を安定化し、その転写活性を増強させて強い抗腫瘍活性を誘導しようと考えた。*in vitro* の実験系において、低容量の Ad5CMV-p53 と同時に Ad-ARF を共感染させることで、Ad-ARF 濃度に依存性に p53 の発現増強が認められた。しかし、p53 mRNA レベルは一定であり、この現象が p53 mRNA の翻訳後修飾によるものであることを示唆している。p53 発現増強により顕著な併用効果がみられ、p53 標的遺伝子の発現増強も観察された。さらに、ヌードマウスに移植したヒト肺癌腫瘍に低容量の Ad5CMV-p53 と Ad-ARF を同時に腫瘍内投与することで、高容量の Ad5CMV-p53 単独投与を凌駕する抗腫瘍活性が観察された。p53 は単独でも治療遺伝子としては魅力的ではあるが、他の遺伝子と組み合わせることでその効果を選択的に強めることが可能であると考えられる。

3) 胸膜播種の治療戦略：p53 遺伝子以外の治療遺伝子の研究も進んでいる。最近、癌細胞の浸潤・転移に

表 1 p53 遺伝子治療を施行された症例一覧 (平成 15 年 3 月現在)

症例	年/性	病理	部位	TNM分類/病期	前治療	投与経路	投与量	回数
01	58/男	扁平上皮癌	気管分岐部	cT4N0M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	14 (485)
02	58/男	扁平上皮癌	左肺下葉	cT4N2M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU	9 (340)
03	66/男	扁平上皮癌	右主気管支	cT2N0M0 S: IB (術前)	手術 化学療法 レーザー療法	気管支鏡	10 ⁹ PFU	4 (109)
04	46/女	肺癌	左肺上葉	cT2N3M1 S: IV	化学療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	10 (619)
05	55/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT4N1M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡 CT	10 ⁹ PFU + CDDP	3 (165)
06	54/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT3N2M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	CT	10 ⁹ PFU + CDDP	2 (207)
東北大学 07	71/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N1M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	2 (178)
岡山大学 08	52/男	扁平上皮癌	右肺下葉	cT2N2M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU	1 (115)
岡山大学 09	66/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N0M0 S: IB (術前)	手術 化学療法 放射線療法	CT	10 ¹⁰ PFU	4 (590)
東京都港区大 10	51/男	肺癌	右肺下葉	cT2N2M1 S: IV	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	1 (150)
東京医大 11	55/男	肺癌	右肺上葉	cT4N3M0 S: IIIB	化学療法	CT	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2 (生存)
東京医大 12	61/男	扁平上皮癌	右肺上葉	cT4N2M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹⁰ PFU + CDDP	2 (390)
岡山大学 13	62/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT4N3M0 S: IIIB	化学療法 放射線療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1 (88)
東北大学 14	70/男	扁平上皮癌	左肺上葉	cT2N2M0 S: IIIA	化学療法	気管支鏡	10 ¹¹ PFU	1 (生存)

重要な分子として、細胞外基質を分解する酵素ヘパラーゼが注目されている。基底膜に浸潤する癌細胞はヘパラン硫酸特異的なエンドグルクロニダーゼであるヘパラーゼの高い活性を有しており、ヘパラーゼは癌細胞の流出、着床、浸潤過程において重要な役割を果たしていると考えられている。ヘパラーゼ遺伝子の mRNA に相補的なアンチセンス配列の DNA をベクターに組み込み標的癌細胞に導入することで、転写された RNA を標的 RNA と結合させ、ヘパラーゼ遺伝子発現を塩基配列特異的に阻害しようと考えた。肺癌細胞 A549 にヘパラーゼ遺伝子発現アデノウイルスベクター (Ad-S/hep) を感染させると、ベクターの濃度依存性に外来性ヘパラーゼの発現が認められ、in vitro の Boyden チャンバーを用いたアッセイでは浸潤能の増強が観察された。この系に、ヘパラーゼのアンチセンス・ベクター (Ad-AS/hep) を感染させると、やはり濃度依存性にヘパラーゼの発現が抑制され、A549 細胞の浸潤が特異的に阻害された。さらに、低濃度の Ad-S/hep ベクターを感染させた A549 細胞をヌードマウ

スの胸腔内に移植する胸膜播種モデルにおいて、Ad-AS/hep ベクターを連続 3 日間胸腔内投与することで播種巣の形成が抑制され、明らかな抗腫瘍活性が認められた。胸膜播種は多くの肺癌症例で見られる進展形式であり、その制御は肺癌治療の重要な課題である。ヘパラーゼ遺伝子を標的とした胸膜播種の遺伝子治療は、まだ前臨床の段階ではあるが、その有用性が確認されつつある。

4) **p53 遺伝子治療の耐性機構の解析**: p53 遺伝子導入を 5 回繰り返すことにより、p53 に耐性の非小細胞肺癌細胞株 H1299R1~R5 を樹立した。LacZ 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた感染効率のチェックでは、耐性獲得に従って感染効率の著明な低下を認めた。また、同時に p53 依存性のアポトーシスへの耐性も獲得された。これらの細胞株では、アデノウイルス受容体である CAR の発現は明らかに低下していたが、アデノウイルスの接着因子であるインテグリン $\alpha V\beta 3$ および $\alpha v\beta 5$ の発現には変化がなかった。したがって、p53 遺伝子導入に対する耐性機構の一つに、CAR 発現

表 3 p53 遺伝子治療における抗体価

Pt No. / Initial	Cycle	Enzyme Immuno Assay		Ad5 Neutralisation Assay
		Anti-p53	Anti-Ad (U/ml) x 1000	
Pt #1 / F-A	pre	(-)	17.71	20
	1	(-)	26.46	1280
	2	(-)	29.65	1280
	3	(-)	35.24	2560
	4	(-)	70.63	1280
	5	(-)	51.35	1280
	6	(-)	56.46	2560
	7	(-)		2560
	final	(-)	62.47	5120
Pt #2 / T-M	pre	(-)	12.16	< 20
	1	(-)	31.03	320
	2	(-)	43.53	320
	3	(-)	65.83	640
	4	(-)	56.82	320
	5	(-)	76.47	160
	6	(+)	55.03	160
	final	(-)		340
Pt #3 / S-I	pre	(-)	10.36	< 20
	1	(-)	22.82	20
	2	(-)	23.86	40
	3	(-)	24.63	20
Pt #4 / N-M	pre	(-)	13.14	320
	1	(+)	48.68	160
	2	(+)	14.98	1280
	3	(+)	18.10	1280
	4	(-)		1280
	5	(+)		1280
	6	(+)	30.11	5120
	final	(+)	48.94	2560

表 2 p53 遺伝子治療における有害事象

有害事象	重症度			計(100%) n = 12
	軽度	中等度	重度	
発熱	1	8	2	11 (91.7%)
血痰	7	1	0	8 (66.7%)
呼吸困難	6	0	0	6 (50.0%)
悪心	2	3	0	5 (41.7%)
嘔吐	3	2	0	5 (41.7%)
咳	4	0	0	4 (33.3%)
便秘	3	0	0	3 (25.0%)
背部痛	2	1	0	3 (25.0%)
閉塞性肺炎	0	2	1	3 (25.0%)
胸痛	3	0	0	3 (25.0%)
下痢	3	0	0	3 (25.0%)
口内炎	2	0	0	2 (16.7%)
左肩疼痛	2	0	0	2 (16.7%)
感染症	1	1	0	2 (16.7%)
貧血	0	0	2	2 (16.6%)
肺炎	0	1	0	1 (8.3%)
無気肺	0	0	1	1 (8.3%)
腹部膨満感	1	0	0	1 (8.3%)
感覚神経異常	1	0	0	1 (8.3%)
気胸	1	0	0	1 (8.3%)
血腫	1	0	0	1 (8.3%)
全身倦怠感	1	0	0	1 (8.3%)
鼻汁	1	0	0	1 (8.3%)
上腕疼痛	0	1	0	1 (8.3%)
胸水	1	0	0	1 (8.3%)
下血	1	0	0	1 (8.3%)
倦怠感	1	0	0	1 (8.3%)
歯痛	1	0	0	1 (8.3%)
腰痛	1	0	0	1 (8.3%)
急性上気道炎	0	1	0	1 (8.3%)
神経系-気分	1	0	0	1 (8.3%)
神経系-聴覚	0	2	0	1 (8.3%)
生検部疼痛	1	0	0	1 (8.3%)
左手指化膿	1	0	0	1 (8.3%)
体重減少	0	0	1	1 (8.3%)

減弱による感染効率の低下が考えられる。

【臨床研究】

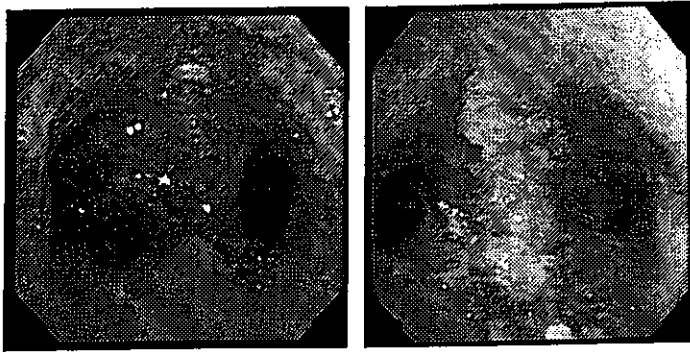
「非小細胞肺癌に対する正常型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びシスプラチン (CDDP) を用いた遺伝子治療臨床研究」

平成 11 年 3 月に開始した本研究は、平成 12 年 4 月に多施設共同の臨床試験に移行しており、平成 15 年 3 月現在 14 例の症例に対して p53 遺伝子導入単独あるいはシスプラチン併用で治療が行われた (岡山大学 9 例、東京医大 2 例、東北大学 2 例、慈恵会医大、1 例) (表 1)。

1) **安全性**：現在までのところ、高い確率をもって発症する重篤な副作用は認められておらず (表 2)、ベクター投与の当日あるいは翌日に一過性の 38°C 台の発熱はみられているが、いずれも自然と軽快している。CT ガイド下投与の際の気胸やシスプラチン由来と

思われる嘔気、食欲不振はみられているが、いずれも米国の臨床試験の結果から予測される範囲内であり、本治療は比較的安全に施行可能であると考えられる。

2) **生体内分布**：喀痰から抽出した DNA をテンプレートとしてベクター特異的なプライマーを用いて行った PCR 解析では、10⁹ PFU の気管支鏡下の投与の場合、投与翌日の喀痰に最も高濃度のベクター断片が検出され、以後漸減し、平均して 7 日目の喀痰では検出されなくなっていた。CT ガイド下投与では気管支鏡下投与の際ほど検出はされないが、サイクルによっては投与翌日に強いバンドが認められた。また、腫瘍内局所投与にもかかわらず、投与後 30 分をピークに血漿中にベクターが検出された。しかし、ベクター断片の全身循環に由来すると思われる有害事象は認められていない。一方、尿中にはほとんどベクターは検出されておらず、2 症例で一時的に認められたのみであった。Ad5CMV-p53 投与前後の生検サンプルの解析では、48 時間後に採取した組織の DNA-PCR により 42 回の投与のうち 37 回でベクターが確認されており、ほとんどのケースで確実にベクターが標的部位に deliver されていることが証明された。症例 3 と症例 7 では、それぞれ最終投与後 25 日目、151 日目に剖検が可能であった。いずれも腫瘍組織からは DNA-PCR にてベクター断片が検出され、近位リンパ節でも確認された。また、同サンプルの RT-PCR により 42 回中 34 回で p53 mRNA 発現が認められ、高率に p53 遺伝子発現が誘導されていることが明らかになった。さらに、血中抗アデノウイルス中



治療前

4回治療後
5ヶ月後

図 1 症例 1 における p53 遺伝子治療の効果



遺伝子治療後
(3/2001)

遺伝子治療後 15ヶ月
放射線治療後 13ヶ月
(6/2002)

図 2 症例 11 における p53 遺伝子治療の効果

和抗体価は、ほぼ全例で初回投与後に上昇していた(表 3)。すなわち、抗体価の上昇にもかかわらず p53 遺伝子発現は持続的に保たれており、局所投与の場合には全身循環する血中中和抗体は導入遺伝子発現に顕著な影響をおよぼさないと推測された。また、血中抗 p53 抗体価は 3 例で比較的継続的に上昇がみられたが、2 例は治療前から上昇しており、その他の症例では有意な変化は認められなかった。

3) **臨床効果**：初期量 (10^9 PFU) の Ad5CMV-p53 を投与した 6 例の臨床効果は、PR (partial response) 1 例、SD (stable disease) 4 例、PD (progressive disease) 1 例であり、1 例の PR 症例と 2 例の SD 症例、計 3 例では、呼吸機能の改善、血痰の消失、肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された。第 1 例目の症例では、気管分岐部の扁平上皮癌の退縮 (PR) が見られ、1 年間、計 14 回の投与を行うことが可能であった(図 1)。

表 4 前立腺癌に対する HSV-tk 遺伝子治療

年齢	病期	容量 (PFU)	毒性	ベクター分布	中和抗体	遺伝子発現	臨床効果
1	65	C	10^9	なし	尿中陽性 30分後	Pre: 8 1w: 266 2w: 8	確認 PSA 安定化
2	61	C	10^9	なし	陰性	Pre: 4 1w: 1024 2w: 512	確認 変化なし
3	78	B	10^9	なし	陰性	Pre: 8 1w: 266 2w: 8	材料得られず PSA 減少

治療期間中、病理学的には complete remission (CR)には至らなかったが、腫瘍量は明らかに減少し、そこからの腫瘍増殖は月 1 回のベクター投与で抑制されていた。左肺上葉の腺癌を持つ第 4 例目の症例でも、前医で大量の抗癌剤を使用したにもかかわらず増大していた腫瘍が、遺伝子治療とシスプラチンの併用を開始するとその増殖が止まり、治療を中止した約 8 ヶ月後までほぼサイズが変化しなかった。さらに興味深い点は、この症例では両肺野に多数みられた微小肺内転移も治療期間中増大しなかったことである。右肺上葉の腺癌を持つ第 10 例目では、シスプラチンを併用する遺伝子治療を 2 回施行した後、放射線療法を行った。その後、2 年を経過した現在も生存中であり、腫瘍サイズはほとんど変化していない(図 2)。p53 遺伝子導入により、放射線感受性が誘導された可能性が示唆される。

これらの症例では、明らかに腫瘍の増殖抑制が観察されており、最終的には再増殖に至ったとしても、その有効性は評価可能と考えられる。

「前立腺癌に対する Herpes Simplex Virus-thymidine kinase 遺伝子発現アデノウイルスベクター及びガンシクロビルを用いた遺伝子治療臨床研究」

平成 13 年 3 月 27 日に第 1 例目の症例への投与が施行され、現在までに内分泌療法抵抗性局所再燃症例 3 例の治療が終了している。ベクターは経直腸的エコーガイド下に前立腺内に直接投与され、その後抗ウイルス薬であるガンシクロビルの全身投与が行われた。全例において副作用は認められず、投与 48 時間後に採取した腫瘍組織内において HSV-tk 遺伝子の導入が RT-PCR 法にて確認された。PSA を指標とした臨床効果では 1 例にて PSA 上昇の抑制を、また 1 例にて PSA の正常化を認めた(表 4)。

D. 考察

いずれの臨床研究も順調に進んできた。非小細胞肺癌に対する p53 遺伝子治療は、安全に施行可能であることが明らかになってきた。また、症例によっては腫

瘍縮小効果や増殖抑制が認められ、簡便な局所療法としての有用性が確認された。生体内分布に関しても詳細な解析が行われ、抗アデノウイルス抗体価の上昇にもかかわらず、導入された p53 遺伝子発現が長期に得られることがわかった。前立腺癌に対する HSV-tK/ガンシクロビル遺伝子治療も安全に行えることが明らかになり、PSA を指標とした抗腫瘍活性も確認できた。基礎研究の面においても、p53 依存性アポトーシスの作用機構や p53 遺伝子導入に対する耐性機構の検討など、今後臨床的に反映すべき知見が得られており、また Ad-ARF やアンチセンス・ヘパラーゼなど新たな治療戦略につながる研究成果も得られた。これらの結果は、当初設定した目的を十分に達成しており、さらなる発展が期待できる。

肺癌組織へのアデノウイルスベクターの投与により、血漿中でベクター断片を検出することが可能であった。一方、同じ腫瘍内局所投与でも、前立腺に投与後は血漿中ではベクターは確認できなかった。この結果は、固形腫瘍への腫瘍内局所投与でも標的臓器によりその生体内分布が異なることを示しており、今後の遺伝子治療研究にとって重要な情報となると思われる。また、臨床効果で興味深い点は、p53 遺伝子治療後に放射線療法を行った症例で比較的長期の生存が得られたことである。p53 遺伝子導入により放射線感受性が増強した可能性があり、学術的にも今後のメカニズムの解析や臨床応用への反映が望まれる。

欧米では、Ad5CMV-p53 は ADVEXIN™ として開発が進んでおり、肺癌に対しても世界的に臨床開発が進行する予定である。今回、あと 1 例で第 I 相臨床試験を終了し安全性確認を終えることにより、今後は臨床的な有用性を評価するための世界的な臨床試験に参加することも可能となり、国際的にも遺伝子治療製剤の開発に貢献できると考える。前立腺癌の HSV-tK/ガンシクロビル遺伝子治療においても同様であり、ペイラー医大との共同研究の形で進行しており、国際的な貢献度も高いと考える。

肺癌の p53 遺伝子治療に関しては、臨床研究への参加希望が 4 施設で計 450 人以上に達しており、残念ながら適応患者はかなりしぼられたものの、社会的ニーズは極めて高いと思われる。後述のごとく、第 I 相臨床試験終了後に第 II 相臨床試験に進み、その有効性を明らかにすることは、一般医療として本治療法が確立されることにつながり、社会的にも重要であると考えられる。また、前立腺癌の患者数は欧米をはじめ増加傾向にある。HSV-tK/ガンシクロビル遺伝子治療が有効な局所療法となれば、今後本邦でも増加していく前立腺癌患者において治療の選択肢が増えることとなる。

いずれの臨床研究においても、現在は極めて進行した患者が対象であるが、ベクターの安全性が確認されれば積極的に他の治療法との併用を検討することができる。例えば、外科的切除可能な症例に術前投与する

ことで腫瘍サイズの縮小を期待したり、また術中の腫瘍細胞散布による転移を抑制することもできる。根治切除不能な症例の切除断端に投与することで、局所再発や遺残腫瘍組織の再増殖を予防することができる。すなわち、より早期の患者に使用することが可能となり、集学的治療法の一つの選択肢として考えられるようになることを期待される。

具体的には、肺癌に関しては放射線を併用する第 II 相臨床試験を計画する。本研究により、p53 遺伝子導入が放射線感受性を増強する可能性が示唆されたため、抗癌剤の代わりに局所療法である放射線治療を同時に行う予定である。また、簡便に行える p53 遺伝子治療は高齢者や合併症を有する患者に恩恵があると思われるため、適応基準の年齢制限をはずし、さらに無治療症例に適応を広げる。この臨床研究も多施設共同で進めることで、早期の症例登録とデータ解析を目指す。前立腺癌に対する HSV-tK/ガンシクロビル遺伝子治療は、第 I 相臨床試験の早期終了を目指し、さらに interleukin 12 遺伝子を用いた免疫遺伝子治療を併用する方向で臨床展開を考えている。

E. 結論

アデノウイルスベクターを用いた局所的な遺伝子治療は安全に施行可能であり、遺伝子導入およびその発現が確認された。また、症例によっては明らかな抗腫瘍効果が観察された。

F. 研究発表

1. 論文発表

【英文】

1. Tanaka M, Saijo Y, Sato G, Suzuki T, Tazawa R, Satoh K, Nukiwa T. Induction of antitumor immunity by combined immunogene therapy using IL-2 and IL-12 in low antigenic Lewis lung carcinoma. *Cancer Gene Ther.*, 7: 1481-1490, 2000.
2. Shao, J., Fujiwara, T., Kadowaki, Y., Fukazawa, T., Waku, T., Itoshima, T., Yamatsuji, T., Nishozaki, M., Roth, J. A., Tanaka, N. Overexpression of the wild-type p53 gene inhibits NF- κ B activity and synergizes with aspirin to induce apoptosis in human colon cancer cells. *Oncogene*, 19:726-736, 2000.
3. Itoshima, T., Fujiwara, T., Waku, T., Shao, J., Kataoka, M., Yarbrough, W. G., Liu, T.-J., Roth, J. A., Tanaka, N., Kodama, M. Induction of apoptosis in human esophageal cancer cells by sequential transfer of the wild-type p53 and E2F-1 genes: involvement of p53 accumulation via ARF-mediated MDM2 downregulation. *Clin. Cancer Res.*, 6, 2851-2859, 2000.
4. Saito J, Nakai Y, Saijo Y, Nukiwa T, Koinumaru S, Matsuura Y, Aso N, Yamane Y, Tsukamoto T, Sayama T, Nakabayashi TA phase II trial of oral UFT plus cisplatin (CDDP) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). *Lung Cancer*, 31: 285-293, 2001.
5. Iwakami SI, Setoguchi Y, Saijo Y, Azuma M, and Fukuchi Y. Replication-deficient adenovirus-mediated transfer of B7-1

- (CD80) cDNA induces anti-tumor immunity in isolated human lung cancer. *Respirology*, 6: 135-144, 2001.
6. Saijo Y, Sato G, Usui K, Sato M, Sagawa M, Kondo T, Minami Y, Nukiwa T. Expression of nucleolar protein p120 predicts poor prognosis in patients with stage-I lung adenocarcinoma. *Ann Oncol*, 12: 1121-1125, 2001.
 7. Fukazawa, T., Fujiwara, T., Kadowaki, Y., Shao, J., Waku, T., Itoshima, T., Takata, Y., Kagawa, S., Roth, J. A., Tschopp, J., Tanaka, N. Accelerated degradation of cellular FLIP protein through the ubiquitin-proteasome pathway in p53-mediated apoptosis of human cancer cells. *Oncogene*, 20: 5225-5231, 2001.
 8. Uno, F., Fujiwara, T., Takata, Y., Ohtani, S., Katsuda, K., Takaoka, M., Ohkawa, T., Naomoto, Y., Nakajima, M., Tanaka, N. Antisense-mediated suppression of human heparanase gene expression inhibits pleural dissemination of human cancer cells. *Cancer Res.*, 61: 7855-7860, 2001.
 9. Shao, J., Teraishi, F., Katsuda, K., Tanaka, N., Fujiwara, T. p53 inhibits adriamycin-induced down-regulation of cyclin D1 expression in human cancer cells. *Biochem. Biophys. Res. Co.*, 290: 1101-1107, 2002.
 10. Katsuda, K., Kataoka, M., Uno, F., Murakami, T., Kondo, T., Roth, J. A., Tanaka, N., Fujiwara, T. Activation of caspase-3 and cleavage of Rb are associated with p16-mediated apoptosis in human non-small cell lung cancer cells. *Oncogene*, 21: 2108-2113, 2002.
 11. Tango, Y., Fujiwara, T., Itoshima, T., Takata, Y., Katsuda, K., Uno, F., Ohtani, S., Tani, T., Roth, J. A., Tanaka, N. Adenovirus-mediated p14^{ARF} gene transfer cooperates with Ad5CMV-p53 to induce apoptosis in human cancer cells. *Hum. Gene Ther.*, 13: 1373-1382, 2002.
 12. Pradono P, Tazawa R, Maemondo M, Tanaka M, Usui K, Saijo Y, Hagiwara K, Nukiwa T. Gene Transfer of Thrombospondin (TSP) A₂ Synthase and Prostaglandin (PG) I₂ Synthase Antithetically Altered Tumor Angiogenesis and Tumor Growth. *Cancer Res*, 62: 63-66, 2002.
 13. Teraishi, F., Kadowaki, Y., Tango, Y., Kawashima, T., Umeoka, T., Kagawa, S., Tanaka, N., Fujiwara, T. Ectopic p21^{WAF1} gene transfer induces retinoic acid receptor beta expression and sensitizes human cancer cells to retinoid treatment. *Int. J. Cancer*, 103: 833-839, 2003.
- 【邦文】
1. 藤原俊義、門脇嘉彦、田中紀章：がん関連遺伝子を標的とした遺伝子治療。最新医学 55: 25-31、2000。
 2. 藤原俊義、片岡正文、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の分子療法の現況と展望。Bithery 14: 622-628、2000。
 3. 藤原俊義、西崎正彦、田中紀章：p53 遺伝子導入による血管新生抑制：肺癌遺伝子治療への応用。癌と化学療法 27: 1217-1224、2000。
 4. 藤原俊義、田中紀章：遺伝子変える 21 世紀の医療現場：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療：肺癌への臨床応用。治療 83: (1457-1462) 161-166、2001。
 5. 藤原俊義、片岡正文、田中紀章：p53 遺伝子を用いた肺癌の遺伝子治療 - 遺伝子製剤としての可能性 -。肺癌の臨床 3: 321-328、2001。
 6. 藤原俊義、片岡正文、田中紀章：局所療法としての遺伝子治療 - p53 遺伝子製剤の安全性と臨床効果 -。最新医学 56: 780-791、2001。
 7. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子を用いたがんの遺伝子治療 - 肺癌治療への応用 -。分子がん治療 2: 84-91、2001。
 8. 藤原俊義、田中紀章：悪性腫瘍に対するがん抑制遺伝子治療研究の現状。分子細胞治療 2: 247-254、2001。
 9. 藤原俊義、田中紀章：アデノウイルスベクターを用いた肺癌の p53 遺伝子治療。治療学 35: 759-763、2001。
 10. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療 - Tumor Dormancy Therapy としての可能性 -。医学のあゆみ 198: 451-455、2001。
 11. 藤原俊義、田中紀章：肺癌の遺伝子治療。外科治療 85: 463-464、2001。
 12. 藤原俊義、田中紀章：アデノウイルスベクターを用いた肺癌の遺伝子治療。医学のあゆみ 199: 673-677、2001。
 13. 香川俊輔、藤原俊義、片岡正文、田中紀章：呼吸器疾患に対する遺伝子治療。外科 63: 1740-1747、2001。
 14. 片岡正文、香川俊輔、藤原俊義、田中紀章：肺癌の遺伝子治療。肺癌の臨床 4: 221-230、2001。
 15. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子治療における抗腫瘍活性増強のストラテジー。遺伝子医学 6: 15-20、2002。
 16. 片岡正文、藤原俊義、香川俊輔、田中紀章：遺伝子治療。日本外科学会雑誌 103: 244-249、2002。
 17. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療。癌の臨床 48: 303-311、2002。
 18. 藤原俊義、田中紀章：肺癌遺伝子治療の現状。日本医師会雑誌 128: 378、2002。
 19. 香川俊輔、藤原俊義：肺癌に対する遺伝子治療：p53 出現アデノウイルスベクターによる肺癌遺伝子治療臨床試験の現況。医学のあゆみ 203: 302-306、2002。
2. 学会発表
【国際学会】
1. Shao, J., Fujiwara, T., Kataoka, M., Kadowaki, Y., Fukazawa, T., Waku, T., Itoshima, T., Tanaka, N. Overexpression of the wild-type p53 gene inhibits NF-κB activity and synergizes with aspirin to induce apoptosis in human colon cancer cells. 91th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 2000.
 2. Fujiwara, T., Kataoka, M., Nakamura, A., Tanaka, N. Adenoviral p53 [RPR/INGN 201] gene therapy for non-small cell lung cancer. The 4th International Symposium of Catholic Research Institutes of Medical Science "Prospectives of Medical Science in 21C", 2000.
 3. Fujiwara, T., Kataoka, M., Nakamura, A., Tanaka, N. Phase I study of adenoviral p53 gene therapy for non-small cell lung cancer. International Symposium of Gene Therapy, 2000.
 4. Itoshima, T., Fujiwara, T., Kataoka, M., Kadowaki, Y., Fukazawa, T., Shao, J., Waku, T., Tanaka, N., Kodama, M. Induction of apoptosis in human esophageal cancer cells by sequential p53 and E2F-1 gene transfer: involvement of p53 accumulation via ARF-mediated MDM2 downregulation. 91th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research, 2000.

5. Katsuda, K., Fujiwara, T., Fukazawa, T., Kataoka, M., Kadowaki, Y., Waku, T., Itoshima, T., Tanaka, N. Accelerated degradation of cellular FLIP protein through the ubiquitin-proteasome pathway in p53-mediated apoptosis of human cancer cells. *91th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research*, 2000.
6. Uno, F., Fujiwara, T., Kadowaki, Y., Kataoka, M., Fukazawa, T., Shao, J., Waku, T., Itoshima, T., Tanaka, N. Ectopic p21^{sd1} gene transfer induces retinoic acid receptor (RAR)- β expression and sensitizes human cancer cells to retinoid treatment. *91th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research*, 2000.
7. Waku, T., Fujiwara, T., Kataoka, M., Kadowaki, Y., Fukazawa, T., Shao, J., Itoshima, T., Tanaka, N. Bystander effect of adenoviral p53 gene therapy for human cancer: involvement of Fas ligand-induced neutrophil migration. *91th Annual Meeting of the American Association for Cancer Research*, 2000.
8. Fujiwara, T. Phase I study of adenoviral p53 [RPR/INGN 201] gene therapy for non-small cell lung cancer. *2001 PDA International Congress, Kyoto*, 2001.
- 法早期臨床試験の課題と展望」[依頼]、2001.
11. 香川俊輔、藤原俊義、片岡正文、Roth, J. A., Fang, Bingliang、田中紀章：TRAIL 遺伝子による癌細胞特異的な apoptosis 誘導と bystander 効果。第 39 回日本癌治療学会総会 (サイエンティフィック・シンポジウム)、2001.
12. 藤原俊義：遺伝子治療：臨床応用の現況と展望。平成 13 年度第 2 回日本癌学会シンポジウム「難治性癌に対する治療戦略 -from bench to bed side-」(シンポジウム[依頼])、2001.
13. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療：臨床応用の現況と今後の課題。第 24 回日本分子生物学会年会 (シンポジウム[依頼])、2001.
14. 藤原俊義、宇野太、香川俊輔、片岡正文、田中紀章：肺癌治療において遺伝子治療の目指すもの。第 102 回日本外科学会定期学術集会 (シンポジウム)、2002.
15. 香川俊輔、藤原俊義、常光洋輔、片岡正文、Fang, B., 田中紀章：TRAIL 遺伝子導入による癌細胞特異的な apoptosis 誘導と bystander 効果。第 102 回日本外科学会定期学術集会 (ワークショップ)、2002.
16. 藤原俊義、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：非小細胞肺癌に対する Ad5CMV-p53 による遺伝子治療臨床研究：安全性、効果、遺伝子発現、生体内分布に関する中間報告。第 61 回日本癌学会総会 (ワークショップ)、2002.
17. 丹後泰久、藤原俊義、大谷彰一郎、香川俊輔、西崎正彦、谷徹、荒川博文、田矢洋一、田中紀章：アデノウイルスベクターを用いた p53 遺伝子治療における選択的アポトーシス誘導の分子機構：p53 Ser46 リン酸化の解析。第 61 回日本癌学会総会 (ワークショップ)、2002.
18. 谷本光隆、藤原俊義、高田佳子、大谷彰一郎、川嶋健、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：制限増殖型アデノウイルスによる非増殖型 p53 遺伝子発現アデノウイルスベクター(Ad5CMV-p53)の腫瘍選択的増殖。第 61 回日本癌学会総会 (ワークショップ)、2002.
19. 藤原俊義：ウイルスベクターを用いた遺伝子治療臨床応用の現況。文部科学省振興調整費知的基盤整備シンポジウム「組換えウイルス・コアバンクの創設とその高度利用のための基盤技術に関する研究 (シンポジウム)、2002.
20. 藤原俊義、川嶋健、香川俊輔、西崎正彦、田中紀章：肺癌に対する遺伝子治療の現状と展望：非増殖型ベクターから制限増殖型ベクターへ。第 43 回日本肺癌学会総会 (ワークショップ)、2002.

【国内学会】

1. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子導入による血管新生の抑制：肺癌の遺伝子治療への応用。第 12 回日本臨床腫瘍研究会 (シンポジウム)、2000.
2. 藤原俊義、田中紀章：肺癌の遺伝子治療 -p53 遺伝子発現アデノウイルスベクターを用いた遺伝子治療の臨床試験。第 40 回日本呼吸器学会総会 (ワークショップ)、2000.
3. 藤原俊義、片岡正文、中村篤、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療：臨床試験の現況と展望。第 73 回日本薬理学会年会 (シンポジウム)、2000.
4. 藤原俊義、門脇嘉彦、香川俊輔、片岡正文、田中紀章：癌に対する遺伝子治療の現況と展望 -p53 遺伝子治療から新しい分化誘導療法まで。第 100 回日本外科学会総会 (シンポジウム)、2000.
5. 藤原俊義、片岡正文、中村篤、田中紀章：p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療：遺伝子製剤としての可能性。第 59 回日本癌学会総会 (パネルディスカッション・原点)、2000.
6. 片岡正文、藤原俊義、中村篤、田中紀章：p53 遺伝子を用いた肺癌遺伝子治療：第 1 相臨床試験。第 41 回日本肺癌学会総会 (ワークショップ)、2000.
7. 藤原俊義、田中紀章：p53 遺伝子を用いた肺癌の遺伝子治療：癌特異的に作用する遺伝子製剤としての可能性。第 41 回日本呼吸器学会総会 (シンポジウム)、2001.
8. 藤原俊義、片岡正文、香川俊輔、田中紀章：p53 遺伝子異常を標的とした遺伝子治療：臨床試験の現況と問題点。第 101 回日本外科学会総会 (パネルディスカッション)、2001.
9. 藤原俊義、田中紀章：肺癌の遺伝子治療：遺伝子導入技術と臨床応用の現況。日本麻酔科学会第 48 回大会 (シンポジウム[依頼])、2001.
10. 藤原俊義：遺伝子治療の早期臨床試験：課題と展望。第 39 回日本癌治療学会総会 (特別企画「癌薬物療

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
藤原俊義、 田中紀章	遺伝子治療	下山直人 向山雄人 山脇成人	TECHNICAL TERM 緩和医療	先端医学社	東京	2002 年	pp172-173

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Shao, J., Fujiwara, T., Tanaka, N., et al.	p53 inhibits adriamycin-induced down-regulation of cyclin D1 expression in human cancer cells.	Biochem. Biophys. Res. Co.	290 :	1101-1107	2002
Katsuda, K., Fujiwara, T., Tanaka, N., et al.	Activation of caspase-3 and cleavage of Rb are associated with p16-mediated apoptosis in human non-small cell lung cancer cells.	Oncogene	21	2108-2113	2002
Tango, Y., Fujiwara, T., Tanaka, N., et al.	Adenovirus-mediated p14 ^{ARF} gene transfer cooperates with Ad5CMV-p53 to induce apoptosis in human cancer cells.	Hum. Gene Ther.	13	1373-1382	2002
Pradono P, Saijo Y, Nukiwa T., et al.	Gene transfer of thromboxan (TX) A ₂ synthase and prostaglandin (PG) I ₂ synthase antithetically altered Tumor angiogenesis and tumor growth.	Cancer Res.	62	63-66	2002
Maemondo, M., Saijo, Y., Nukiwa, T., et al.	Targeting angiogenesis and HGF function using an adenoviral vector expressing the HGF antagonist NK4 for cancer therapy.	Mol. Ther.	5	177-185	2002
Saijo, Y., Tanaka, M., Nukiwa, T., et al.	Proinflammatory cytokine IL-1 beta promotes tumor growth of Lewis lung carcinoma by induction of angiogenic factors: in vivo analysis of tumor-stromal interaction.	J. Immunol.	169	469-475	2002
Ishimoto, O., Saijo, Y., Nukiwa, T., et al.	Abstract High level of vascular endothelial growth factor in hemorrhagic pleural effusion of cancer.	Oncology	63	70-75	2002
Ohkouchi, S., Saijo, Y., Nukiwa, T., et al.	Non-mutated tumor-rejection antigen peptides elicit type-I allergy in the majority of healthy individuals.	Tissue Antigens	59	259-272	2002

Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., et al.	Immunologic parameters as significant prognostic factors in lung cancer.	Lung Cancer	37	161-169	2002
Nakamura, H., Saji, H., Kato, H., et al.	Correlation between encoded protein overexpression and copy number of the HER2 gene with survival in non-small cell lung cancer.	Int. J. Cancer	103	61-66	2002
Uchida, K., Eto, Y., Yoshimura, K., et al.	Expression of progastrin-releasing peptide and gastrin-releasing peptide receptor mRNA transcripts in tumor cells of patients with small cell lung cancer.	J. Cancer Res. Clin. Oncol.	128	633-640	2002
Saika, T., Nasu, Y., Kumon, H., et al.	Prostate specific antigen complexed to alpha-1-antichymotrypsin in patients with intermediate prostate specific antigen levels.	Cancer	94	1685-1691	2002
Ebara, S., Nasu, Y., Kumon, H., et al.	Gene therapy for prostate cancer: toxicological profile of four HSV-tk transducing adenoviral vectors regulated by different promoters.	Prostate Cancer Prostatic Dis.	5	316-325	2002
Teraishi, F., Tanaka, N., Fujiwara, T., et al.	Ectopic p21 ^{ras} gene transfer induces retinoic acid receptor beta expression and sensitizes human cancer cells to retinoid treatment.	Int. J. Cancer	103	833-839	2003
藤原俊義、田中紀章	p53 遺伝子治療における抗腫瘍活性増強のストラテジー.	遺伝子医学	6	15-20	2002
藤原俊義、田中紀章	p53 遺伝子を用いた癌の遺伝子治療.	癌の臨床	41	303-311	2002
藤原俊義、田中紀章	肺癌遺伝子治療の現状.	日本医師会雑誌	128	378	2002
藤原俊義、田中紀章	消化器癌における molecular targeting 療法としての遺伝子治療.	G. I. Research	11	11-18	2003

20020841

以降は雑誌/図書に掲載された論文となりますので、
P.9- P.10の「研究成果の刊行に関する一覧表」をご参照ください。