

図7: モニター腫瘍の大きさの変化。

このように臨床例においても交番磁場装置をCTI治療室内で使用することで安全・確実に治療を遂行できた。また、治療効果の判定も画像診断技術を駆使することで監視、評価することが可能となり、2回目以降の治療時期決定においてもこれらの診断機器を駆使した治療効果の判定は極めて有効であった。

5. メラノジェネシス標的化学温熱免疫 (CTI) 療法における腫瘍免疫機構の解析

研究方法

1) NPrCAP/M を用いた温熱療法の治療効果および免疫誘導効果の検討

モデル癌抗原として Ovalbumin を発現する B16F1 メラノーマ細胞 (B16-OVA) を用いて実験を行った。B16-OVA を C57BL/6 マウスの皮下に移植し、担癌マウスを作成した。第 7, 9, 11, 13 日目に腫瘍内に NPrCAP/M を局所注射し、24 時間後に磁場照射を行った。さらに B16OVA を再移植し、腫瘍拒絶効果を検討した。腫瘍径は 1 日おきに測定した。次に治癒したマウスから脾臓を摘出し、放射線照射した B16-OVA メラノーマ細胞と一緒に 5 日間培養した。5 日後、⁵¹Cr release assay を行った。標的細胞は B16-OVA、B16F1、EL4、YAC-1 そして OVA 由来のペプチドである SL8 をパルスした EL4 を用いた。

2) Heat shock protein 発現の検討

培養 B16-OVA メラノーマ細胞に NPrCAP/M を添加し、30 分間静置後、細胞ペレットに磁場照射を行い、72 時間培養した。72 時間後、培養細胞を集め、液体窒素による急速凍結、解凍を繰り返して細胞抽出液を作成した。細胞抽出液中の HSP 発現量を ELISA 法と Western blot 法で測定した。

3) NPrCAP/M を用いた温熱療法後のメラノーマ細胞抽出液でパルスした樹状細胞と特異的 CD8⁺ T cell 反応性の検討

C57BL/6 マウスの骨髄より採取した樹状細胞に細胞抽出液を添加し 2 時間培養した。その後、OVA 由来のペプチドである SL8 に特異的に反応する CD8⁺ T cell である B3Z を培養液に加え、24 時間培養した。24 時間後、CPRG 液を加え、OD595nm を測定した。さらに細胞抽出液から抗 Hsp70 抗体、抗 Hsp90 抗体、抗 KDEL 抗体とプロテインビーズを用いて HSPs を除去し、同様の実験を行った。このとき得られた免疫沈降物をマウスのフットパッドに免疫し、4 時間後膝窩リンパ節を摘出し、MACS ビーズを用いて精製した樹状細胞を B3Z とともに培養し 24 時間後に CPRG 液を加え OD595nm を測定した。

4) HSP の免疫による腫瘍特異的 CTL の誘導

細胞抽出液から抗 Hsp70 抗体、抗 Hsp90 抗体、抗 KDEL 抗体とプロテインビーズを用いて HSPs を精製した。これをマウスに 2 度、免疫し、脾細胞における CTL 誘導について ⁵¹Cr release assay を用いて検討した。

研究結果

1) NPrCAP/M を用いた温熱療法の治療効果および免疫誘導効果の検討

B16-OVA メラノーマに NPrCAP/M を局所注射し、磁場照射を行ったところ、腫瘍が縮小し治癒した (図 1)。さらに治癒したマウスに B16-OVA を再移植すると、腫瘍が拒絶された (図 2)。腫瘍が拒絶されたマウスにおいては B16-OVA および OVA 由来のペプチドである SL8 をパルスした EL4 に特異的な細胞傷害性 T 細胞の誘導が確認され (図 3)、治療マウスの腫瘍拒絶は腫瘍特異的な免疫によるものと考えられた。

2) Heat shock protein 発現の検討

一方培養細胞において NPrCAP/M を取り込ませた B16-OVA メラノーマ細胞に磁場照射し得られた細胞抽出液中には Hsp70 放出量の増加がみられたが Hsp90 の発現量は変化がなかった (図 4)。また培養上清中の Hsp72 および Hsp90 を ELISA 法にて測定した。Hsp72, Hsp90 いずれも 48 時間後で検出されたが、Hsp72 の放出量が有意に高値であった (図 5)。

3) NPrCAP/M を用いた温熱療法後のメラノーマ細胞抽出液でパルスした樹状細胞と特異的 CD8⁺ T cell 反応性の検討

NPrCAP/M による加温後の細胞抽出液でパルスした樹状細胞は CD8⁺ T cell との反応性の上昇がみられた (図 6)。さらにこの細胞抽出液から HSP 抗体を用いて immunodepletion を行うと反応性の低下がみられた (図 7 A)。特に Hsp72/Hsc73 を除去すると、T 細胞の反応性が最も低下したことから、Hsp72/Hsc73 が CTI 療法による免疫誘導に重要な役割を果たしていることが示唆された。Hsp72/Hsc73, Hsp90 および小胞体の HSP の depletion は western blotting により確認した (図 7B)。またこのとき得られた免疫沈降物をマウスのフットパッドに注射し、4 時間後膝窩リンパ節から樹状細胞

を分離し、B3Z とともに培養したところ B3Z の反応がコントロールにくらべて増加した (図 8 A)。この事実は、細胞内の HSP には抗原ペプチドが結合しており、生体内においても HSP-抗原ペプチド複合体が樹状細胞によりクロスプレゼンテーションされ、T 細胞を活性化することを示すものである。以上の結果から NPrCAP/M が HSP の up-regulation を介して腫瘍疫を誘導することが示唆された。

4) NPrCAP/M と温熱処理後のメラノーマ細胞抽出液から精製した HSP の免疫による CTL の誘導

NPrCAP/M と温熱処理後の B16-OVA メラノーマ細胞抽出液から抗 Hsp72/Hsc73 抗体、抗 Hsp90 抗体および抗 KDEL 抗体とプロテイン A ビーズを用いて精製した HSP をマウスに 2 回免疫したのち、脾細胞を用いて CTL 活性を測定した。B16-OVA および EL4 に OVA 由来の SL8 ペプチドをパルスした標的細胞に対し、高い細胞傷害活性を認めた (図 8 B)。しかし、EL4 や YAC-1 は傷害されなかった。このことは腫瘍から精製した HSP には腫瘍由来の抗原が結合していることを示すものである。

図1 治療後の腫

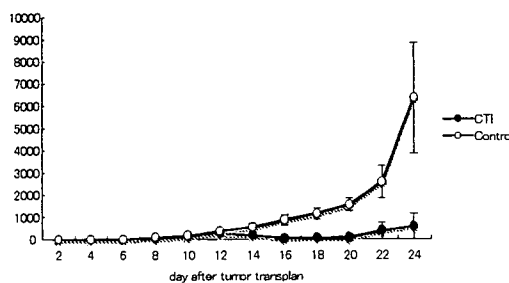


図2 再移植後の腫瘍径

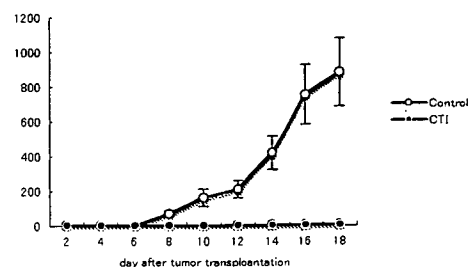


図 4

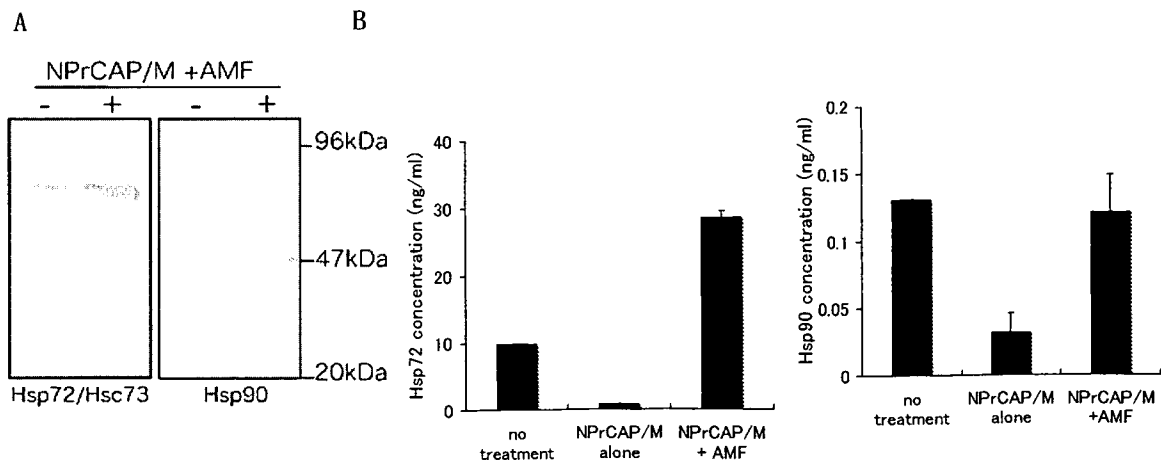


図 5

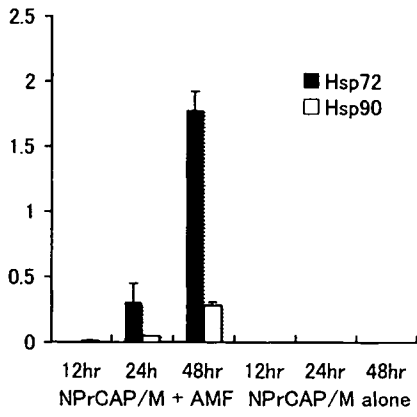


図 6

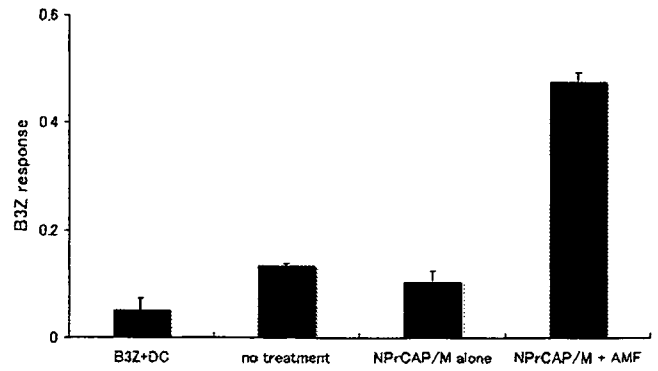


図 7

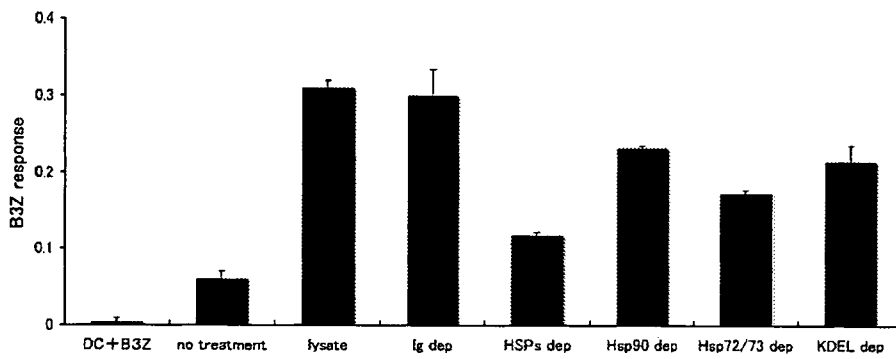
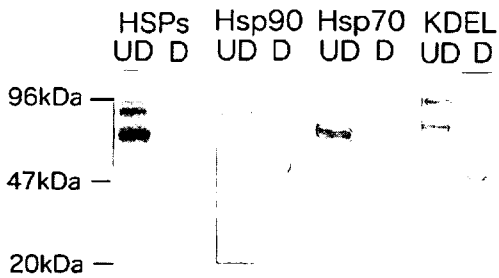
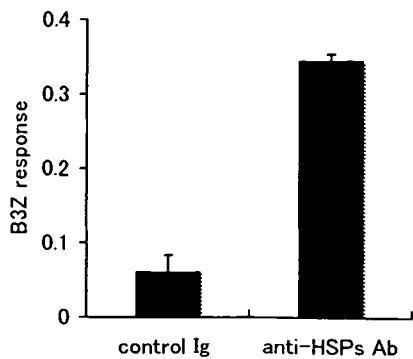


図 7B



HSP 除去前 (UD) と除去後 (D) の細胞抽出液の western blotting

図 8 A



B

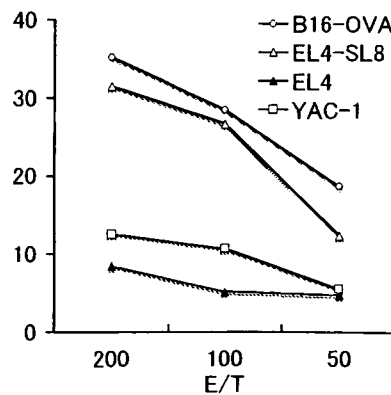
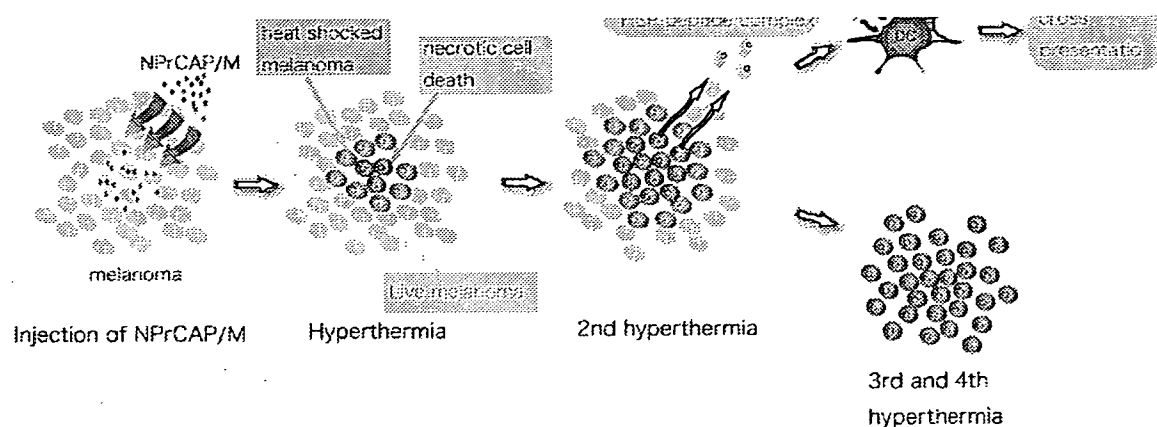


図9 NPrCAP/M と AMF によるメラノーマ標的温熱療法のメカニズム



D. 考察

1. 薬剤の合成とその新規結合型マグネタイトの開発

今後の臨床応用に視野を向けてすでに MRI 用肝臓造影剤として使用されているシェーリング製のリゾビストに PEG 処理したものと NPrCAP-SH との反応を検討したところ、NPrCAP-SH との結合量が低いことがわかった。この原因は、未結合のカルボキシデキストランが含有しているためと考えられた。これを打開するためにリゾビストの製造元会社に遊離のカルボキシデキストランを含まないリゾビストの合成を新たに依頼し、そのリゾビストを使って NPrCAP-SH との反応を行なったところ、結合量の改善が見られた。つぎに GMP grade PEG/リゾビストを合成し、GMP grade NPrCAP-SH との反応により目的の GMP grade NPrCAP/PEG/リゾビストを合成した。

2. 薬剤のデザインと合成法の開発

1) 4種類の薬剤のデザインと合成

本研究では、4つのタイプのことなる新規薬剤を合成し、4-S-CAP/MCL においては局注での抗腫瘍効果を確認した。また、薬剤を PEG 化することによって、最終目標である血中投与において、メラノーマ細胞に集積させるドラッグデリバリーシステムの完成に近づいたのではないかと考えられる。

2) 4-S-CAP 包埋型 ML を用いたガン治療実験

本研究では、4-S-CAP/MCL の 4-S-CAP 部分

の効果とマグネタイトによる温熱療法の効果の相加効果をみるために、温熱療法の温度を 45°C に設定した。しかし、マグネタイトによる発熱は 45°C 以上に設定することも可能であり、46°C 以上に加温すると全てのマウスの腫瘍が完全に退縮するという結果も得られている。したがって、マグネタイトを用いた温熱療法単独でもメラノーマ治療に対してかなり高い効果が期待できるが、さらに 4-S-CAP が併用されることで、相加効果によって、より強力な治療法が確立されると考えられる。

3) PEG 化マグネタイトのマクロファージ食食抑制効果

薬剤の PEG 化による利点は、粒子の分散安定性だけではない。今後、最終目標である血中投与において、メラノーマ細胞に集積させるドラッグデリバリーシステムを完成させるには、血中での安定性および細網内皮系への取り込みの回避を考える必要がある。本研究で示した通り、マグネタイトを PEG 化することによって、細網内皮系細胞の一つであるマクロファージの食食を低下させることができた。このことから、将来的に NPrCAP/PEG/M の静脈投与による治療の可能性も示された。

4) PEG-M の細胞内取り込み量測定と細胞毒性の評価

本実験では、PEG-Mag は細胞内取り込み量が低いことを示した。このことは、生体内に投与した際にも、非特異的に組織内の細胞に吸着して取り込まれてしまうことを防ぐ役割があると考えられる。このことによって、NPrCAP を表面に結合させた NPrCAP/PEG/DM は、非

特異的な吸着が抑えられ、メラノーマ細胞特異的に結合することが期待できる。

PEG は生体親和性の高い高分子として知られている。WST-8 における生細胞率の測定で、PEG-Mag が Aminosilane-Mag よりも細胞毒性が低かった理由は、PEG の持つ生体親和性の高さによるものもあると考えられることから、NPrCAP/PEG/DM の生体適合性も同様に期待できる。

3. 薬剤の選択的メラノーマ細胞移行性とオン温熱細胞死の誘導及び抗腫瘍効果

NPrCAP/M 処理した B16F1 細胞ペレットへの磁場照射実験により、NPrCAP/M は効率の良い発熱ナノ微粒子であることが確認された。色素性メラノーマがマグネタイトに比較して NPrCAP/M を多量に取り込んだことより、ナノ微粒子表面の NPrCAP が DDS 機能を有することが推測された。メラノーマを移植したマウス腹腔内への NPrCAP/M 投与実験から、NPrCAP/M は血流を介してメラノーマ組織へ移行したと考えられ、メラノーマを標的とする全身療法の可能性が示された。鉄粒子が後期メラノソーム内に高率に認められたことは、NPrCAP/M の分子標的がメラニン合成系であることを強く示唆している。NPrCAP/M 処理および 43℃、30 分の温熱による細胞死誘導実験により、色素性メラノーマ細胞に高率な細胞死誘導が認められたことより、NPrCAP/M の取り込みと温熱による細胞死は相関し、細胞死誘導実験においてもマグネタイト表面の NPrCAP 分子がターゲティングに重要であると推測された。NPrCAP/M と磁場照射による温熱療法は細胞にネクロシスを誘導することを示唆し、B16F1 細胞を 43℃ で温熱処理すると、46℃ 処理よりも高レベルの HSP70 を産生したことより、NPrCAP/M による温熱療法が免疫療法としても有効であることが示唆された。

4. 磁場発生装置の改良、化学温熱免疫 (CTI) 治療室設置と学内臨床試験

メラノーマ (MM) は極めて悪性度が高く、外

科的治療、化学療法、免疫療法などを駆使しても stage IV の患者に対する治療法は未だ確立されていない。我々は MM に対する新規治療である CTI 治療の開発、臨床応用を目指して基礎的検討を積み重ねてきた。本治療では MM 細胞に対して選択的に取り込まれる CAP を細胞に対する標的ドラッグデリバリーシステムとして用い、磁場照射により腫瘍に対して選択的に温熱細胞障害効果を有するナノ微粒子 M と結合・固定化させて治療するという治療概念で治療効果を期待する。動物実験による検討の結果、CAP の直接的な薬理学的効果に加え、温熱治療により治療した腫瘍内の M core 周辺部の壊死を見るのみでなく HSP を介した免疫反応により CTL が再移植した MM 腫瘍を拒絶することを確認した。CAP はチロシナーゼの基質として MM をはじめとしたメラニン形成細胞に選択的に非可逆的に細胞膜リセプターを介して細胞膜に接着し、その後細胞内に取り込まれる。この際、MM では癌化とともに CAP の取り込みが異常に亢進しているために他のメラニン形成細胞よりも特異的に取り込まれて化学的治療が可能となると考えられる。このためナノ微粒子 M 表面に CAP を結合させ、腫瘍内に注入すると細胞内に容易に取り込まれると推定される。その状態で生体に無害な程度の磁場に局所的に暴露することで腫瘍内のナノ微粒子 M が発熱、温度が 43-45 度上昇、in situ で効率的に腫瘍細胞を壊死させるとともに HSP を放出させることが可能である。我々の模擬実験の結果や臨床例の治療後摘出した腫瘍の病理組織像では治療した腫瘍の中心部に注入した薬剤による core が存在、その周辺には発生した熱による zone of necrosis が存在し、さらにその周辺には zone of heat shock と考えられる腫瘍細胞が浮腫状に変性した部分を取り囲んでいた。

また、治療後 2-3 週間後に摘出した治療腫瘍ではその zone of heat shock の周辺を取り囲むように CD8 陽性の CTL と考えられるリンパ球の集積を見た。腫瘍ではその結果、直接の MM 細胞殺効果のみならず CTL サイトカインの放出を刺激して治療腫瘍のみではなく遠隔転移巣にも免疫療法としての効果を誘導し、縮小・消退させる物と考えられ。既にわれわれは CAP はメラニン形成 MM のみならず無色素性 MM にも取り込まれることを確認し、さらに腹腔内に投与した CAP/M が移植 MM の細胞内小器官に分布することを確認している。将来は全身的な投与によっても治療効果が期待できる物と考えている。

それらの検討結果を踏まえ、本概念による CTI 治療の臨床応用のために治療装置を改良するとともに交番磁場発生装置から発生する電磁波を完全にシールド可能な治療室を設計・施工、治療機器の改良を行ない治療手順マニュアルを作成し、臨床応用の可能な環境・手法を完成させ、自主臨床研究を開始した。その結果を踏まえ、その治療戦略の臨床応用のための環境整備を目指した検討を行った。優れた基礎的研究成果も実際の臨床応用に適応させるためには種々の問題をクリアしなければならないのは当然である。治療環境には安全で操作性の優れた治療装置の開発改良、治療装置を設置して患者の治療を行うことに適した治療室の設計・施工が基本的に最も重要である。この点では本研究で述べたように十分に臨床応用に適した治療機器が開発改造できた。特に模擬腫瘍を用いた実験でも比較的低い出力で達成目的温度である 43℃以上に達し、30 分間維持できることが確認できた。この点から現状の交番磁場治療装置少数の症例の治療には既に十分な性能を持つことが確認できた。今後改善が望まれるのは交番磁場治療装置の治療へ

ッドが三次元的に回転する装置の開発が望まれる。また、より長時間の治療をするためには冷却水の流量をさらに増加させることと、騒音の防止の観点から治療室外にポンプを設置することが望ましいと考えている。一方、今回設計・施工した CTI 治療室は交番磁場治療装置から発生されるマイクロ波、電磁場をほぼ完全にシールド可能な極めて高性能な治療室として設計され、検証されていることから現実的には全く、人体はもとより、他の精密電子機器に対して影響を与える可能性は無いことが交番磁場発生装置から最も強く発生するのは 150KHz の高周波磁場であり、その倍数周波数も生ずるが次第に減弱すると考えられるので現状で十分な遮蔽効果が有ることが確認され室外に設置された電子機器や他の患者や医療従事者に障害を与える可能性が無いことが確認された。また、治療室内には治療用の木製ベッドを設置してあるので異常発熱などで患者に障害を与える可能性は皆無であることが確認されている。

以上の治療環境が整備されたことを受けて治療手順を作成したが、模擬皮膚腫瘍を用いた検討で研修を積んだ医師であればこの手順に従って臨床例の治療に当たれば安全に効果的な治療を進められるものと考えている。手順に従って治療に当たっては薬剤注入、磁場照射とも echo guide 下に必ず 2 名以上の医師が当たることを原則とした。確実な治療効果を得るためには echo guide 下に腫瘍中央への薬剤の確実な投与と腫瘍 core および腫瘍表面の温度モニター下の磁場治療が有効である。確実な腫瘍内薬剤投与、磁場治療の際の温度計センサー先の適切な設置は echo guide 下に行われることが望ましくこの点でもハンディエコー装置の導入使用は必須である。超音波診断装置、CT 等の画像 data の解析法の確立により治療効果の数値化した公平で経時的な解析が可能となった。現在、既に 4 症例の治療を開始し、臨

床経過を観察中であるが治療後、皮膚転移巣の劇的な縮小を認めている症例もあり、MMに対する新規治療法として期待される。今後は臨床例でさらに注意深く治療を進め、経験を積み重ねることでさらに優れた治療プロトコルの設定と治療手法の完成を目指したい。

5. メラノジェネシス標的化学温熱免疫 (CTI) 療法における腫瘍免疫機構の解析

我々はメラノーマ細胞に選択的にとりこまれ細胞内発熱効果をもつ NPrCAP/M を用いて選択的にメラノーマ細胞を温熱する Chemo-Thermo-Immuno (CTI) Therapy の確立を目指している。NPrCAP はメラノサイトおよびメラノーマが特異的に発現しているチロシナーゼの強力な基質となるため、メラノーマへの targeting をはかり、magnetite の表面にこれを結合させることで、細胞内での加温が遂行可能となる。すなわち本治療法では NPrCAP/M に磁場照射を加えることにより、メラノーマ選択的な温熱療法が可能である。実際、in vivo においても NPrCAP/M と磁場照射を3回施行することで、5mm 大の B16-OVA メラノーマ細胞はほぼ完全に退縮した。これらの腫瘍退縮をみたマウスに再度 B16-OVA を接種すると、完全に拒絶した。一方、同系のマウス肺癌細胞 3LL を接種したマウスでは、このような腫瘍拒絶は認められなかった。これらの事実は、NPrCAP/M による温熱治療によって腫瘍退縮を得たマウスでは、メラノーマ特異的な抗腫瘍免疫が誘導されていることが示唆する。また NPrCAP 投与で腫瘍が退縮したマウスでは、B16-OVA に対する高い細胞傷害活性を有する細胞傷害性 T 細胞 (CTL) の誘導を認めた。この CTL は OVA 由来の H-2K^b に提示される SL8 ペプチド (SIINFEKL) をパルスした標的細胞を傷害した。このことは NPrCAP/M と温熱によるメラノーマ細胞の necrosis は “in situ” vaccination として抗腫瘍免疫応答を誘導する、いわゆる immunogenic cell death であると考えられる。さらにこの免疫応答は HSP の up-regulation、特に Hsp72 が重要な役割を果たしていることを示した。この Hsp72 はメラノーマ細胞内で抗原ペプチドを結合し

ており、細胞の壊死により細胞外に放出される、この Hsp72-抗原ペプチド複合体が樹状細胞などの抗原提示細胞に取り込まれ、さらに抗原ペプチドがその MHC class I 分子に提示される、すなわちクロスプレゼンテーションされることで、特異的 CTL を誘導・活性化することを示した (図9)。このように CTI 療法により、全身性の抗腫瘍免疫応答を誘導することが可能であり、遠隔転移したメラノーマに対しても治療効果が期待できることを示している。またメラノーマの征圧のためにはこの抗腫瘍免疫効果を生涯にわたり持続させることが肝要である。CTI 療法で一旦誘導された免疫応答に対するブースター免疫の開発が今後の重要な課題である。

E. 結論

1. 薬剤の合成とその新規結合型マグネタイトの開発

リゾビスト製造元会社との連携により、NPrCAP-SH とカルボキシデキストランがフリーのリゾビストを反応させて目的の物質を合成できた。さらに、新たに調製した GMP grade リゾビストを用いて GMP grade NPrCAP/PEG/リゾビストの合成を達成できた。今後は、GMP grade の NPrCAP/PEG/リゾビストの安定した供給が必要になる。しかしながら、結合量のバラツキを少なくする改良法の構築の必要性が急務である。

2. 薬剤のデザインと合成法の開発

CAP 化合物とマグネタイトを含む4種類の新しいナノメディシンを設計し合成することに成功した。また、マウスのメラノーマにおける動物実験における検証で、CAP 化合物とマグネタイトを含むナノパーティクルは、メラノーマ治療において強い抗腫瘍効果を示すことが示唆された。また、臨床応用のための GMP も視野に入れた合成プロセスを構築した。

3. 薬剤の選択的メラノーマ細胞移行性とオン温熱細胞死の誘導及び抗腫瘍効果 NPrCAP を結合したマグネタイトナノ微粒子

NPrCAP/M は、チロシナーゼの基質になること、磁場照射により効率良く発熱すること、メラノーマ細胞に高率に取り込まれ磁場照射による 43°C の温熱によりメラノーマ細胞にネクロシスを誘導することが示された。本研究は、NPrCAP/M による温熱療法がメラノーマ標的温熱免疫療法として有望であることを示唆するものであり、将来的なメラノーマの全身分子標的療法確立のための重要な研究であると考えられた。

4. 磁場発生装置の改良、化学温熱免疫 (CTI) 治療室設置と学内臨床試験

完全なシールドが達成された CTI 治療室を設置できた。CTI 治療室には蛍光灯照明、冷暖房、煙熱感知器、電源、給排水装置完備、磁場防止ガラス使用観察窓装備。車椅子、ストレッチャーによる患者移送可能なバリアフリー設計。治療用ベッドは木製。改造後の交番磁場治療装置も従来装置と同様の優れた加熱効果を持つことが試験運転で証明された。アームなどの操作性も比較的良好であり。患者の治療に当たっては水平に規定された治療部位に垂直に装置の治療面を近接させることが重要であった。今後は治療ヘッドが三次元的に回転する装置の開発が望まれる。少ない症例の治療では現状でも十分であるが、今後、長時間の治療のためには冷却水の流量を増加させることが望ましい。以上、CTI 治療環境が整備され、治療手順が整備されたことを受けて臨床例での治療を開始させ、CTI 治療の有効性を臨床例の早期効果判定の結果確認できた。超音波診断装置、CT 等の画像 data の解析法の確立により治療効果の数値化した公平な解析が可能となった。現在、既に 4 症例の治療を開始し、臨床経過を観察中であるが治療後、皮膚転移巣の劇的な縮小、消失を認めている症例もある。本報告は世界で初めての MM に対する nano particle magnetite を用いた臨床治療であり従来根治的治療法が無かった MM の進行例の治療戦略として大いに期待される。

5. メラノジェネシス標的化学温熱免疫 (CTI) 療法における腫瘍免疫機構の解析

我々が開発したチロシンのアナログである NPrCAP と AMF によるメラノーマ標的温熱免疫療法は、すでに樹立したマウスメラノーマ腫瘍に対して著明な腫瘍増殖抑制効果を示した。完全な腫瘍退縮を得たマウスにおいては、CD8⁺ T 細胞をエフェクター細胞とする腫瘍特異的な免疫応答が誘導されていることを示した。この事実は NPrCAP/M をメラノーマに取り込ませたのち、温熱をメラノーマに与えることにより、免疫賦活性の細胞死を介する免疫応答を惹起し、転移巣の退縮を期待できるものである。今後、全身性の抗腫瘍免疫の維持をはかるための適切なブースター免疫を開発することも重要な課題である。また深部の再発・転移にも有用な治療法の開発も念頭に置く必要がある。

F. 研究発表

1. 論文発表

(神保主任研究者)

1. Akasaka Y, Ono I, Tominaga A, Ishikawa Y, Ito K, Suzuki T, Imaizumi R, Ishiguro S, Jimbow K, Ishii T: Basic fibroblast growth factor in an artificial dermis promotes apoptosis and inhibits expression of α -smooth muscle actin, leading to reduction of wound contraction. *Wound Rep Reg*, 2007, 15: 378-389
2. Imai A, Sahara H, Tamura Y, Jimbow K, Saito T, Ezoe K, Yotsuyanagi T, Sato N: Inhibition of endogenous MHC class II-restricted antigen presentation by tacrolimus (FK506) via FKBP51. *Eur. J. Immunol*, 2007, 37: 1730-1738
3. Kamiya T, Okabayashi T, Tokota S, Jiro O, Yamashita T, Fujii T, Jimbow K: Increased caspase-2 activity is associated with induction of IFN- β sensitive melanoma cell lines. *J Invest Dermatol* (Submitted), 2007
4. Ogino J, Sohma H, Kamiya T, Yamashita T, Jimbow K: Tyrosinase-related-protein 1 (TYRP-1) is directly associated with AP-1 and co-localized with CGA proteins as well as CI-M6PR in the vesicular transport of early melanogenesis. *J Invest Dermatol* (Submitted), 2007
5. Yanagisawa K, Yasuda S, Kai M, Imai S, Yamada K, Yamashita T, Jimbow K, Kanoh H, Sakane F: Diacylglycerol kinase α suppresses tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of human melanoma cells through NF- κ B activation. *Biochem Biophys Acta*, 2007, 1771: 462-474.
6. Kawakami A, Sakane F, Imai S, Yasuda S, Kai M, Kanoh H, Jin H, Hirosaki K, Yamashita T, Fisher D, Jimbow K: Rab7 regulates maturation of melanosomal matrix protein gp 100/Pmel 17/Silv. *J Invest Dermatol* (In press), 2007
7. Ono I, Yamashita T, Takada T, Tominaga A, Hirosaki K, Jimbow K: Reconstruction method with a newly-designed bilobed flap after excision of tumors of the skin. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg*, 2006, 40: 32-40.
8. Takada T, Yamashita T, Sato M, Kawakami Y, Tominaga A, Ono I, Jimbow M, Tsutsumi H, Jimbow K: Papulonecrotic tuberculid-like eruptions after BCG vaccination. *J Dermatol*, 2007, 34(3): 183-191.
9. Ogino J, Jimbow K, Ono I, Sakemoto A, Kamiya T, Kaneko R, Hirosaki K, Saga K, Yamashita T: Pilot study of combined dermoscopy and reflectance confocal microscopy evaluation for the early detection of basal cell carcinoma. *J Am Acad Dermal* (Submitted), 2007
10. Hida T, Yamashita T, Hirosaki K, Kawakami A, Jin HY, Tosa N, Hitoshi S, Kokai Y, Jimbow K: Dominant negative Rab 7 induces vesicular transport unique to Tyrp1 compared to other melanosomal proteins, tyrosinase and gp100 in melanogenesis cascade. *Exp Cell Res*, 2006 (Submitted) *Pigment Cell Res* (Submitted), 2007
11. Endo M, Yamashita T, Jin HY, Kamada A, Jimbow K: Functional analysis of human tyrosinase-related protein 1 (TYRP1) by site directed mutagenesis on tyrosinase-mediated melanin production and cytotoxicity. *Exp Cell Res*, 2007 (Submitted)
12. Ito A, Fujioka M, Yoshida T, Wakamatsu K, Ito S, Yamashita T, Jimbow K, Honda H. 4-s-cysteaminylphenol-loaded

- magnetite cationic liposomes for combination therapy of hyperthermia with chemotherapy against malignant melanoma. *Cancer Sci*, 2007, 98(3), 424-430
13. Ono I, Yamashita T, Kamiya T, Takada T, Kaneko R, Jimbow K: Lower lip and vermilion reconstruction with buccal musculomucosal flap combined with V-Y plasty after malignant tumor excision. *Plas Recon Sur*, 2006, 117(7): 133e- 139e.
 14. Ono I, Sakemoto A, Ogino J, Kamiya T, Yamashita T, Jimbow K: The real-time, three-dimensional analyses of benign and malignant skin tumors by confocal laser scanning microscopy. *J Dermatol Sci*, 2006, 43: 135-141.
 15. Munakata N, Cornain S, Kanoko M, Mulyadi K, Lestari S, Wirohadidjojo W, Bolseé D, Kazadzis S, Meyer-Rochow V, Schuch N, Casiccia C, Kaneko M, Liu CM, Jimbow K, Saida T, Nishigori C, Ogata K, Inafuku K, Hieda K, Ichihashi M: Biological monitoring of solar UV Radiation at 17 sites in ASIA, Europe and south America from 1999 to 2004. *Photochem Photobiol*, 2006, 82(3): 698-694.
 16. Hirosaki K, Jimbow K: Biological structures and properties involved in pigmentation process and role of stress. *Geriatric Dermatology Seminar* 2005 1: 37-45, 2006
 17. 神保孝一、井上裕悦、富永晃宏、山下利春: 加齢とメラニン形成: メラノコルチンリセプター (MCR) . 加齢皮膚医学セミナー 2005 (Geriatric Dermatology Seminar ・ Japanese) 2006, 1: 31-35.
 18. Jimbow K, Hara H: Management of pigmentary disorders. Editor: Robert E, Rankel, Edward T. Bope, ELSEVIER, Philadelphia (USA), Conn' s Current Therapy 2006 edition. 2006, 1058-1065.
 19. Jimbow K, Yamashita T, Matsusaka H, Hirosaki K, Yoneta A, Kamada A, Inoue H, Hida T, Kawakami A, Kamiya T, Ogino J, Takada T, Sato M, Sakemoto A, Ono I: Exploitation of melanin and melanosome biogenesis for better management of malignant melanoma. *Sapporo Med J*, 2005, 74(3-4): 23-31
 20. Saga K, Jimbow K: Clear reticulated cytoplasm of human eccrine sweat glands: immunohistochemical differentiation from pathological degeneration. *Br J Dermatol*, 2005, 152(2): 389-391
 21. Takenouchi M, Sahara H, Yamamoto Y, Matsumoto Y, Imai A, Fujita T, Tamura Y, Takahashi N, Gass S, Matsumoto K, Ohta K, Sugawara F, Sakaguchi K, Jimbow K, Sato N: Mechanism of the immunosuppressive effect in vivo of novel immunosuppressive drug beta-SQAG9, which inhibits the response of the CD62L+ T-Cell subset. *Transplant Proc*, 2005, 37(1): 139-142.
 22. Yamada A, Saga K, Jimbow K: Acquired multiple pilosebaceous cysts on the face having the histopathological features of statocystoma multiplex and eruptive vellus hair cysts. *Int J Dermatol*, 2005, 44(10): 861-863.
- (伊藤・若松分担研究者)
1. Wakamatsu, K., Hu, D-N., McCormick, S.A., Ito, S. Characterization of melanin in human iridal and choroidal melanocytes from eyes with various colored irides. *Pigment Cell Res.*, 2008, 21: 97-105.
 2. Ito A, Fujioka M, Yoshida T, Wakamatsu K, Ito S, Yamashita T, Jimbow K, Honda H. 4-S-cysteaminylphenol-loaded magnetite cationic liposomes for combination

- therapy of hyperthermia with chemotherapy against malignant melanoma. *Cancer Sci.* 2007, 98(3): 424-430.
3. Wakamatsu, K., Hirobe, T., Ito, S. High levels of melanin-related metabolites in plasma from pink-eyed dilution mice. *Pigment Cell Res.*, 2007, 20: 222-224.
 4. Kitao, Y., Imai, Y., Ozawa, K., Kataoka, A., Ikeda, T., Soda, M., Namekawa, K., Kiyama, H., Stern, D. M., Hori, O., Wakamatsu, K., Ito, S., Itohara, S., Takahashi, R., Ogawa, S. Pael receptor induces death of dopaminergic neurons in the substantia nigra via endoplasmic reticulum stress and dopamine toxicity, which is enhanced under condition of parkin inactivation. *Hum Mol Genet.*, 2007, 16: 50-60.
 5. Murakami, K., Wakamatsu, K., Nakanishi, Y., Takahashi, H., Sugiyama, S., Ito, S. Serum levels of pigmentation markers are elevated in patients undergoing hemodialysis. *Blood Purif.* 2007, 25(5-6): 483-489.
 6. D' Orazio JA, Nobuhisa T, Cui R, Arya M, Spry M, Wakamatsu K, Igras V, Kunisada T, Granter S, Nishimura EK, Ito S, Fisher DE. Topical drug rescue strategy and skin protection based on the role of Mclr in UV-induced tanning. *Nature*, 2006, 443: 340-344.
 7. Wakamatsu K, Kavanagh R, Kadekaro AL, Terzieva S, Sturm R, Leachman S, Abdel-Malek A, Ito S. Diversity of pigmentation in cultured human melanocytes is due to differences in the type as well as quantity of melanin. *Pigment Cell Res*, 2006, 19: 154-162.
 8. Wakamatsu K, Takasaki A, Kågedal B, Kageshita T, Ito S. Determination of eumelanin in human urine. *Pigment Cell Res*, 2006, 19: 163-169.
 9. Wakamatsu K, Ito S. Evaluation of melanin-related metabolites as markers of solar ultraviolet radiation. *Pigment Cell Res*, 2006 19: 460-464.
 10. Ito S. Encapsulation of a reactive core in neuromelanin. *Proc Natl Acad Sci (USA)*, 2006 103: 14647-14648.
 11. 2006 103: 14647-14648.
 12. Gautam R, Novak EK, Tan J, Wakamatsu K, Ito S, Swank RT. Interaction of Hermansky-Pudlak syndrome genes in the regulation of lysosome-related organelles. *Traffic*, 2006, 7: 779-792.
- (本多・井藤分担研究者)
1. Kawai N, Futakuchi M, Yoshida T, Ito A, Sato S, Naiki T, Honda H, Shirai T, Kohri K. Effects of heat therapy using magnetic nanoparticles conjugated with cationic liposomes on prostate tumor in bone. *Prostate*, in press (2008)
 2. Okochi M, Hayashi H, Ito A, Kato R, Tamura Y, Sato N, Honda H. Identification of HLA-A24-restricted epitopes with high affinity to Hsp70 using peptide array. *J Biosci Bioeng*, in press (2008)
 3. Ito A, Kobayashi T, Honda H. Heat immunotherapy with heat shock protein expression by hyperthermia using magnetite nanoparticles. *Ann Cancer Res Ther*, 15(2), 27-34 (2007)
 4. Ito A, Fujioka M, Yoshida T, Wakamatsu K, Ito S, Yamashita T, Jimbow K, Honda H. 4-S-Cysteaminylphenol-loaded magnetite cationic liposomes for combination therapy of hyperthermia with chemotherapy against malignant melanoma. *Cancer Sci.* 98(3), 424-430 (2007)

5. Ito A, Honda H, Kobayashi T. Cancer immunotherapy based on intracellular hyperthermia using magnetite nanoparticles: a novel concept of "heat-controlled necrosis" with heat shock protein expression. *Cancer Immunol Immunother.* 55(3), 320-328 (2006)
 6. Kawai N, Ito A, Nakahara Y, Honda H, Kobayashi T, Futakuchi M, Shirai T, Tozawa K, Kohri K. Complete regression of experimental prostate cancer in nude mice by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes and a newly developed solenoid containing a ferrite core. *Prostate.* 66(7), 718-727 (2006)
 7. Ito A, Kobayashi T, Honda H. A mechanism of antitumor immunity induced by hyperthermia, *Jpn J Hyperthermic Oncol.* 21(1), 1-11 (2005)
 8. Tanaka K, Ito A, Kobayashi T, Kawamura T, Shimada S, Matsumoto K, Saida T, Honda H. Intratumoral injection of immature cells enhances antitumor effect of hyperthermia using magnetic nanoparticles, *Int. J Cancer.* 116(4), 624-633 (2005)
 9. Ito A, Nakahara Y, Fujioka M, Kobayashi T, Takeda K, Nakashima I, Honda H. Complete regression of hereditary melanoma in a mouse model by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes, *Jpn J Hyperthermic Oncol.* 21(3), 139-149 (2005)
 10. Tanaka K, Ito A, Kobayashi T, Kawamura T, Shimada S, Matsumoto K, Saida T, Honda H. Heat immunotherapy using magnetic nanoparticles and dendritic cells for T-lymphoma. *J Biosci Bioeng.* 100(1), 112-115 (2005)
 11. Ito A, Fujioka M, Tanaka K, Kobayashi T, Honda H. Screening of cytokines to enhance vaccine effects of heat shock protein 70-rich tumor cell lysate. *J Biosci Bioeng.* 100(1), 36-42 (2005)
 12. Ito A, Shinkai M, Honda H, Kobayashi T. Medical application of functionalized magnetic nanoparticles. *J Biosci Bioeng.* 100(1), 1-11 (2005)
 13. Kawai N, Ito A, Nakahara Y, Futakuchi M, Shirai T, Honda H, Kobayashi T, Kohri K. Anticancer effect of hyperthermia on prostate cancer mediated by magnetite cationic liposomes and immune-response induction in transplanted syngeneic rats. *Prostate.* 64(4), 373-381 (2005)
- (山下分担研究者)
1. Khan MH, Kobayashi K, Sakauchi F, Yamashita T, Feroze Ahmed M, Hussain D, Quamruzzaman Q, Mori M: Levels of blood and urine chemicals associated with longer duration of having arsenicosis in Bangladesh. *Int J Environ Health Res* 15: 289-296, 2005.
 2. Oshima Y, Ishida S, Maruyama R, Toyota M, Yamashita T, Tokino T, Sasaki Y: Identification of a specific target sequence for p53 family in the Jagged2 gene. *Tumor Res* 40: 13-24.
 3. Ono I, Sakemoto A, Ogino J, Kamiya T, Yamashita T, Jimbow K: The real time, three-dimensional analyses of benign and malignant skin tumors by confocal microscopy. *J Dermatol Science* 43: 135-141, 2006.
 4. Ono I, Yamashita T, Takada T, Tominaga A, Hirosaki K, Jimbow K: Reconstruction method with a newly-designed bilobed flap after excision of tumors of the skin. *Scand J Plast Reconstr Surg Hand Surg* 40 : 32-40, 2006.

5. King KE, Ponnampertuma RM, Gerdes MJ, Tokino T, Yamashita T, Baker CC, Weinberg WC: Unique domain functions of p63 isotypes that differentially regulate distinct aspects of epidermal homeostasis. *Carcinogenesis* 27 : 53-63, 2006.
 6. 西川武志, 小林菜津美, 岡安多香子, 山田玲子, 磯貝恵美子, 磯貝 浩, 山下利春: 茶及びカテキン含有飲料の病原性大腸菌に対する増殖抑制効果の検討. *腸内細菌学 雑誌* 20: 321-327, 2006.
 7. Ito A, Fujioka M, Yoshida T, Wakamatsu K, Ito S, Yamashita T, Jimbow K, Honda H: 4-s-cysteaminylphenol-loaded magnetite cationic liposomes for combination therapy of hyperthermia with chemotherapy against malignant melanoma. *Cancer Science* 98, 424-430, 2007.
 8. Yanagisawa K, Yasuda S, Kai M, Imai S, Yamada K, Yamashita T, Jimbow K, Kanoh H, Sakane F: Diacylglycerol kinase- α suppresses tumor necrosis factor- α -induced apoptosis of human melanoma cells through NF- κ B activation. *Biochimica Biophysica Acta* 1771; 462-474, 2007.
 9. Kawakami A, Sakane F, Imai S, Yasuda S, Kai M, Knoch H, Jin H-I, Hirotsuki K, Yamashita T, Fisher DE and Jimbow K: Rab7 regulates maturation of melanosomal matrix protein gp100/Pmel17/Silv. *J Invest Dermatol* 128: 143-150, 2007.
 10. 山下利春, 黄倉真恵, 菊地梨沙, 佐藤牧人, 高田知明, 小野一郎, 神保孝一: 帯状疱疹患者の末梢血リンパ球における水痘帯状疱疹ウイルス核酸の検出. *西日本皮膚科* 69(4): 408-413, 2007.
 11. Oshima Y, Sasaki Y, Negishi H, Idogawa M, Toyota M, Yamashita T, Wada T, Nagaya S, Kawaguchi S, Yamashita T, Tokino T: Antitumor effect of adenovirus-mediated p53 family gene transfer on osteosarcoma cell lines. *Cancer Biol Ther* 6: 1058-1066, 2007.
 12. Maruyama R, Akino K, Toyota M, Suzuki H, Imai T, Ohe-Toyota M, Yamamoto E, Nojima M, Fujikane T, Sasaki Y, Yamashita T, Watanabe Y, Hiratsuka H, Hirata K, Itoh F, Imai K, Shinomura Y, Tokino T: Cytoplasmic RASSF2A is a pro-apoptotic mediator whose expression is epigenetically silenced in gastric cancer. *Carcinogenesis* (in press).
- (小野分担研究者)
- 1) Ono I, Akasaka Y, Kikuchi R, Sakemoto A, Kamiya T, Yamashita T, Jimbow K: Basic fibroblast growth factor reduces scar formation in acute incisional wounds. *Wound Repair Regen.* 15: 617-623, 2007.
 - 2) Akasaka Y, Ono I, Tominaga A, Ishikawa Y, Ito K, Suzuki T, Imaizumi R, Ishiguro S, Jimbow K, Ishii T: bFGF in artificial dermis promotes apoptosis and inhibits expression of α -smooth muscle actin, leading to reduction of wound contraction. *Wound Repair Regen.* 15: 378-389, 2007.
 - 3) Ono I, Sakemoto A, Ogino J, Kamiya T, Yamashita T and Jimbow K: The real time, three-dimensional analyses of benign and malignant skin tumors by confocal microscopy. *J Dermatol Sci* 43: 135-141, 2006.
 - 4) Ono I, Yamashita T, Kamiya T, Takada T, Kaneko R and Jimbow K: Lower lip and vermilion reconstruction with buccal musculomucosal flap combined with V-Y plasty after malignant tumor excision. *Plastic Reconstr Surg* 2006.
- (佐藤・田村研究分担者)
1. Kamiguchi, K., Torigoe, T., Fujiwara, O.,

- Oshima, S., Hirohashi, Y., Sahara, H., Hirai, I., Kohgo, Y., Sato, N. Disruption of the association of 73kD heat shock protein with transporters associated with antigen processing (TAP) decreases TAP-dependent translocation of antigenic peptides into the endoplasmic reticulum. *Microbiol. Immunol.*, in press
2. Tsukahara, T., Kawaguchi, S., Torigoe, T., Kimura, S., Murase, M., Ichimiya, S., Wada, T., Kaya, M., Nagoya, S., Ishii, S., Tatezaki, S., Yamashita, T., Sato, N. Prognostic impact and immunogenicity of a novel osteosarcoma antigen, papillomavirus binding factor, in patients with osteosarcoma. *Cancer Sci.*, 99:368-375, 2008.
 3. Koshiba, S., Ichimiya, S., Nagashima, T., Tonooka, A., Kubo, T., Kikuchi, T., Himi, T., Sato, N. Tonsillar crypt epithelium of palmoplantar pustulosis secretes interleukin 6 to support B-cell development via p63/p73 transcription factors. *J. Pathol.*, 214:75-84, 2008
 4. Tamura, Y., Kutomi, G., Oura, J., Torigoe, T and Sato, N. Extracellular heat shock proteins (eHSPs) pilot exogenous antigen into cross-presentation pathway: A superguide from extracellular world to intracellular tour. *Annals Cancer Res. and Therapy*, 15:41-49, 2007
 5. Tamura, Y., Kutomi, G., Oura, J., Torigoe, T and Sato, N. Piloting of exogeneous antigen into cross-presentation pathway by heat shock proteins. In *Heat Shock Proteins in Cancer*, edited by S. K. Calderwood. 2007, 383-396.
 6. Yabe, H., Tsukahara, T., Kawaguchi, S., Wada, T., Sato, N., Morioka, H., Yabe, H. Overexpression of papillomavirus binding factor in Ewing' s sarcoma family of tumors conferring poor prognosis. *Oncology Reports*, 19:129-134, 2008.
 7. Kimura, S., Kozakai, Y., Kawaguchi, S., Tsukahara, T., Ida, K., Murase, M., Matsumura, T., Kaya, m., Torigoe, T., Wada, T., Sato, N. and Yamashita, T. Clonal T cell response against autologous pleomorphic malignant fibrous histiocytoma antigen presented by retrieved HLA-A*0206. *J. Orthop. Res.* 26:271-278, 2008
 8. Maeda, H., Sahara, H., Mori, Y., Torigo, T., Kamiguchi, K., Tamura, Y., Tamura, Y., Hirata, K. and Sato, N. : Biological heterogeneity of the peptide binding motif of the 70-kDa heat shock protein by surface plasmon resonance analysis. *J Biol Chem.* 282:26956-26962, 2007
 9. Kitamura, H., Honma, I., Torigoe, T., Hariu, H., Asanuma, H., Hirohashi, Y., Sato, E., Sato, N. and Tsukamoto, T. : Expression of livin in renal cell carcinoma and detection of anti-livin autoantibody in patients. *Urology.* 70:38-42, 2007.
 10. Kurotaki, T., Tamura, Y., Ueda, G., Oura, J., Kutomi, G., Hirohashi, Y., Sahara, H., Torigoe, T., Hiratsuka, H., Sunakawa, H., Hirata, K. and Sato N. : Efficient Cross-Presentation by Heat Shock Protein 90-Peptide Complex-Loaded Dendritic Cells via an Endosomal Pathway. *J. Immunol.* 179:1803-1813, 2007.
 11. Tanaka, T., Kitamura, H., Sahara, H., Imai, A., Itoh, Y., Honma, I., Sato, E., Kobayashi, O K., Maeda, T., Takenouchi, M.,

- Ohta, K., Sugawara, F., Sakaguchi, K., Ando, A., Inoko, H., Sato, N. and Tsukamoto, T. : Effects of a new immunosuppressive agent, beta-SQAG9, in swine kidney transplantation. *Transpl Immunol.* 18:67-71, 2007
12. Takahashi, H., Shigehara, K., Yamamoto, M., Suzuki, C., Naishiro, Y., Tamura, Y., Hirohashi, Y., Sato, N., Shijubo, N., Shinomura, Y. and Imai, K. Interferon gamma assay for detecting latent tuberculosis infection in rheumatoid arthritis patients during infliximab administration. *Rheumatol. Int.*, 27:1143-1148, 2007.
 13. Fukui, R., Nishimori, H., Hata, F., Yasoshima, T., Ohno, K., Yanai, Y., Kamiguchi, K., Denno, R., Sato, N. and Hirata, K. : Inhibitory effect of endothelin A receptor blockade on tumor growth and liver metastasis of a human gastric cancer cell line. *Gastric Cancer.* 10:123-128, 2007.
 14. Kitamura, H., Torigoe, T., Asanuma, H., Honma, I., Sato, N. and Tsukamoto, T. : Down-regulation of HLA class I antigens in prostate cancer tissues and up-regulation by histone deacetylase inhibition. *J Urol.* 178:692-696, 2007.
 15. Imai, A., Sahara, H., Tamura, Y., Jimbow, K., Saito, T., Ezoe, K., Yotsuyanagi, T. and Sato, N. : Inhibition of endogenous MHC class II-restricted antigen presentation by tacrolimus (FK506) via FKBP51. *Eur J Immunol.* 37:11730-11738, 2007.
 16. Tabata, A., Morikawa, M., Miyajima, M., Bennett, BL., Satoh, Y., Huang, J., Tamura, Y., Sato, N. and Abe, T. : Suppression of alloreactivity and allograft rejection by SP600125, a small molecule inhibitor of c-Jun N-terminal kinase. *Transplantation.* 83:1358-1364, 2007.
 17. Shima, H., Tsuruma, T., Sahara, H., Takenouchi, M., Takahashi, N., Iwayama, Y., Yagihashi, A., Watanabe, N., Sato, N. and Hirata, K. : Protective mechanism of beta beta-SQAG9 liposome, a sulfonoglycolipid extracted from sea urchin intestines, against hepatic ischemia reperfusion injury. *Shock.* 28:94-100, 2007.
 18. Kitamura, H., Honma, I., Torigoe, T., Asanuma, H., Sato, N. and Tsukamoto, T. : Down-regulation of HLA class I antigen is an independent prognostic factor for clear cell renal cell carcinoma. *J Urol.* 177:1269-1272, 2007.
 19. Takeuchi, H., Kawaguchi, S., Ohwada, O., Kobayashi, H., Hayakawa, M., Takebayashi, T., Torigoe, T., Sato, N. and Yamashita, T. : Plasma neuropeptides in patients undergoing lumbar discectomy. *Spine.* 32:79-84, 2007.
 20. Kikuchi, T., Naruse, TK., Onizuka, M., Li, S., Kimura, T., Oka, A., Morishima, Y., Kulski, JK., Ichimiya, S., Sato, N. and Inoko, H. : Mapping of susceptibility and protective loci for acute GVHD in unrelated HLA-matched bone marrow transplantation donors and recipients using 155 microsatellite markers on chromosome 22. *Immunogenetics.* 59:99-108, 2007.
 21. Tsukahara, T., Kawaguchi, S., Ida, K., Kimura, S., Tamura, Y., Ikeda, T., Torigoe, T., Nagoya, S., Wada, T., Sato, N. and Yamashita, T. : HLA-A*73:01 mediated specific tumor cytotoxicity by autologous T-lymphocytes infiltrating metastatic bone malignant fibrous histiocytoma of lymph node. *J. Orthop. Res.*, 24: 94-101, 2006

22. Hatakeyama, N., Tamura, Y., Sahara, H., Suzuki, N., Suzuki, K., Hori, T., Mizue, N., Torigoe, T., Tsutsumi, H. and Sato, N. : Induction of autologous CD4- and CD8-mediated T-cell responses against acute lymphocytic leukemia cell line using apoptotic tumor cell-loaded dendritic cells. *Exp. Hematol.* 34: 197-207, 2006
23. Ueda, G., Sunakawa, H., Nakamori, K., Shinya, T., Tshako, W., Tamura, Y., Kosugi, T., Sato, N., Ogi, K. and Hiratsuka, H. : Aberrant expression of β - and γ -catenin is an independent prognostic marker in oral squamous cell carcinoma. *Int. J. Oral Maxillofacial Surg.*, 35: 356-361, 2006
24. Kitamura, H., Torigoe, T., Asanuma, H., Tamura, Y., Hisasue, S., Suzuki, K., Tsukamoto, T., Sato, M. and Sato, N. : Cytosolic overexpression of p62 sequestosome 1 in neoplastic prostate tissue. *Histopathology*, 48: 157-161, 2006
25. Kitamura, H., Torigoe, T., Honma, I., Asanuma, H., Nakazawa, E., Shimozawa, K., Hirohashi, Y., Sato, E., Sato, N. and Tsukamoto T. : Expression and antigenicity of survivin, an inhibitor of apoptosis family member, in bladder cancer: implications for specific immunotherapy. *Urology*, 67: 955-959, 2006
26. Kitamura, H., Torigoe, T., Honma, I., Sato, E., Asanuma, H., Hirohashi, Y., Sato, N. and Tsukamoto, T. : Effect of human leukocyte antigen class I expression of tumor cells on outcome of intravesical instillation of bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for bladder cancer. *Clin. Cancer Res.*, 12: 4641-4644, 2006
27. Tsukahara, T., Kawaguchi, S., Torigoe, T., Asanuma, H., Nakazawa, E., Shimozawa, K., Nabeta, Y., Kimura, S., Kaya, M., Nagoya, S., Wada, T., Yamashita, T. and Sato, N. : Prognostic significance of HLA class I expression in osteosarcoma defined by anti-pan HLA class I monoclonal antibody, EMR8-5. *Cancer Science*, 97: 1374-1380, 2006
28. Komori, H., Nakatsura, T., Senju, S., Ikuta, Y., Yokomine, K., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Beppu, T., Matsui, M., Torigoe, T., Sato, N., Baba, H., and Nishimura, Y. : Identification of HLA-A2- or -A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.*, 12: 2689-2697, 2006
29. Hirohashi, Y., Wang, Q., Liu, Q., Xiulian, Du., Zhang, H., Sato, N. and Greene, M. I. : p78/MCRS1 forms a centrosomal protein complex with NudE and plays an essential role in mitosis. *Oncogene*, 25: 4937-4946, 2006
30. Hirohashi, Y., Wang, Q., Liu, Q., Li, B., Du, X., Zhang, H., Furuuchi, K., Masuda, K., Sato, N. and Greene, M. I. : Centrosomal proteins Ndel and Su48 form a complex regulated by phosphorylation. *Oncogene*, 25: 6048-6055, 2006
31. Tamura, Y., Torigoe, T. and Sato, N. : Extracellular heat shock proteins in immune response: A guide for cross-presentation. *Heat Shock Proteins in Biology and Medicine*, 119-130, 2006
32. Maeda, N., Kokai, Y., Ohtani, S., Sahara, H., Kuriyama, I., Kamisuki, S., Takahashi, S., Sakaguchi, K., Sugawara, F., Yoshida, H., Sato, N. and Mizushima, Y. : Anti-tumor

effects of dehydroaltenusin, a specific inhibitor of mammalian DNA polymerase α . *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352: 390-396, 2007

和文

1. 奥村康、平野俊夫、佐藤昇志編集：Annual Review 免疫 2008、東京、中外医学社、2007
2. 抗原クロスプレゼンテーションの新機軸-抗原提示経路における初期エンドソームの重要性：免疫エンドソームの提唱、田村保明、九富五郎、佐藤昇志 免疫 2008, 2007, 32-42.
3. 奥村康、平野俊夫、佐藤昇志編集：Annual Review 免疫 2006、東京、中外医学社、2006
4. 大浦淳、田村保明、佐藤昇志：Hsp90-癌ペプチド複合体ワクチンの高 CTL 誘導性機構の解析。Annual Review 免疫、中外医学社、190-195、2006
5. 伊東恭悟、佐藤昇志、西村泰治、小幡裕一：発がん防御機構、9. ヒトキラーT細胞および抗体により認識されるがん関連抗原。がん研究のいま① 発がんの分子機構と防御、東京大学出版会、162-177、2006
6. 佐藤昇志：癌免疫療法の具現化と展望-免疫病理学者としての視点から-。泌尿器外科、6月号：721-726、2006
7. 佐藤昇志：ヒト癌免疫、癌ペプチドワクチン開発と熱ショックタンパク質の関わり-癌免疫療法の具現化に向けて-。J. Mass Spectrom. Soc. Jpn., 54: 75-80, 2006
8. 佐藤昇志、田村保明、鳥越俊彦：ヒトがんのペプチド免疫療法。バイオサイエンスとインダストリー、64: 487-493、2006
9. 山蔭道明、相馬仁、宮本篤、平田公一、山本和利、神保孝一、佐藤昇志、今井浩三：本学医学部 PBL テュートリアル

教育に対する学生の評価とその解析。札幌医学雑誌、75：7-12、2006

10. 平田公一、鶴間哲弘、鳥越俊彦、佐藤昇志：癌ワクチン療法の概念と現状。Surgery Frontier 特集：癌ワクチン療法の現状と展望、特集によせて。13：5-7、2006
 11. 奥村康、平野俊夫、佐藤昇志編集：Annual Review 免疫 2007、東京、中外医学社
 12. 重原克則、田村保明、佐藤昇志、四十坊典晴：結核病巣と T 細胞免疫応答。Annual Review 免疫 2007、中外医学社、231-239、2007
- #### 2. 学会発表 (神保主任研究者)
1. Kowichi Jimbow, Tomoaki Takada, Makito Sato, Akiko Sakemoto, Takafumi Kamiya, Ichiro Ono, Toshiharu Yamashita, Yasuaki Tamura, Noriyuki Sato, Atsushi Miyamoto, Akira Ito, Hiroyuki Honda, Shosuke Ito, Kazumasa Wakamatsu: Exploitation of Melanogenesis can provide tyrosinase-targeted drug delivery system and Chemo-thermo-immunotherapy with NPrCAP-magnetite for melanoma patients. 21th Annual Meeting of Pigment Cell Research Congress, Dec 8, 2007, Aichi, Japan.
 2. Exploitation of melanogenesis for tyrosinase targeted DDS and chemo-thermo-immunotherapy with NPrCAP-magnetite for melanoma patients; rationale and preliminary clinical evaluation. 4th International Melanoma Congress, Nov 1-4, 2007, New York. Pigment Cell Res. 20; 513-580
 3. 神保孝一、山下利春、小野一郎、松坂英信、高田知明、佐藤牧人、酒本亜紀子、佐藤昇志、田村保明、宮本篤、本多裕之、井藤彰、伊藤祥輔、若松一雅：メラノーマ治療における新規標的療法の開発：メラノジェネシス標的ナノ微粒子・チロシン（フェノール）誘導体によるメラノーマ化学・温熱・免疫療法。第

- 22 回日本臨床皮膚科医会総会・臨床学術大会 (22nd Japan Organization of Clinical Dermatologists 2006). Japan (May 20, 2006) [日本臨床皮膚科医会雑誌 (J JOCD) 23(6): 524(4)-530(10), 2006]
4. Jimbow K, Yamashita T, Ono I, Matsusaka H, Takada T, Sato M, Sakemoto A, Sato N, Tamura Y, Miyamoto A, Honda H, Ito A, Ito S, Wakamatsu K. Sulfur-homologue of melanogenesis-substrate with magnetite (NPrCAP/M) can inhibit melanoma growth and reject second melanoma inoculation: a novel chemo-thermo-immuno (CTI) therapy in nano-DDS medicine. 第 10 回基盤的癌免疫研究会総会 [The 10th Annual Meeting of Society for Fundamental Cancer Immunology (SFCI)], 札幌 (札幌コンベンションセンター), (July 13-14, 2006)
 5. Jimbow k, Takada T, Sato M, Sakemoto A, Tamura Y, Ito A, Honda H, Wakamatsu K, Ito S, Yamashita T: NPrCAP-magnetite with/without local heat generation can provide melanogenesis-targeted drug delivery system, kill primarily inoculated melanoma by non-apoptosis and reject secondarily inoculated melanoma by HSP- mediated immune reaction. 3rd Annual International Melanoma Research Congress (IMRC), the Netherland (Nordwijk), (September 14-16, 2006), [Melanoma Research 16 (Sup 1): S93, 2006]
 6. K Yanagisawa, K Jimbow, H Kanoh and F Sakane; Diacylglycerol kinase α suppresses TNF- α -induced apoptosis of human melanoma cells through activation. The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology 2006, USA (Philadelphia), (May 3-6, 2006) The 67th Annual Meeting of the Society for Investigative Dermatology 2006, USA (Philadelphia), (May 3-6, 2006)
 7. A Kawakami, F Sakane, S Imai, H Kanoh, M Okura, K Hirosaki, T Yamashita, K Jimbow; Rab7 interacts with the melanosomal matrix protein gp100/Pmel17/Silv and regulates its maturation in MMAc human melanoma cells.
- (伊藤・若松分担研究者)
- 1) 佐藤牧人、山下利春、黄倉真恵、高田知明、酒本亜紀子、小野一郎、田村保明、佐藤昇志、若松一雅、伊藤祥輔、井藤彰、本多裕之、神保孝一、「マグネタイト結合型システアミニールフェノール (NPrCAP/M) のメラノーマ細胞親和性と細胞死誘導」、第 21 回日本色素細胞学会 (豊明) 2007 年 12 月 8 日
 - 2) 酒本亜紀子、田村保明、高田知明、佐藤牧人、小野一郎、山下利春、若松一雅、伊藤祥輔、井藤彰、本多裕之、佐藤昇志、神保孝一、「メラノーマ標的ナノパーティクル NPrCAP/M を用いた化学温熱免疫 (CTI) 療法における腫瘍免疫機構の解析」、第 21 回日本色素細胞学会 (豊明) 2007 年 12 月 8 日
 - 3) Kowichi Jimbow, Tomoaki Takada, Makito Sato, Akiko Sakemoto, Takafumi Kamiya, Ichiro Ono, Toshiharu Yamashita, Yasushi Tamura, Noriyuki Sato, Atsushi Miyamoto, Akira Ito, Hiroyuki Honda, Kazumasa Wakamatsu, and Shosuke Ito, 「Exploitation of melanogenesis can provide tyrosinase-targeted drug delivery system and Chemo-thermo-immunotherapy with NPrCAP-magnetite for melanoma patients.」、第 21 回日本色素細胞学会 (豊明) 2007 年 12 月 8 日
 - 4) 井上雄二、影下登志郎、若松一雅、伊藤祥輔、尹浩信、「熊本大学皮膚科におけるメラノーマ患者 350 例の 5-S-CD 値について」、第 21 回日本色素細胞学会 (豊明) 2007 年 12 月 8 日
 - 5) 菊池かな子、若松一雅、多田弥生、小宮根真

- 弓、伊藤祥輔、玉置邦彦、「ナローバンドUVB療法中尋常性乾癬患者の血清中5-S-cysteinyldopa値の変化」、第21回日本色素細胞学会(豊明)2007年12月8日
- 6) 若松一雅, 伊藤祥輔, Murray Brilliant、「メラニンの微量分析法の再検討」、第21回日本色素細胞学会(豊明)2007年12月8日
- 7) 古川雅代、中村厚、大坪真也、永岡隆、清原祥夫、若松一雅、伊藤祥輔、宗田孝之、「ヒト皮膚モデルに於けるユーメラニンとフェオメラニンの化学的定量」、第21回日本色素細胞学会(豊明)2007年12月9日
- 8) 塚本克彦、長田厚、小山敏雄、若松一雅、「部分的金髪症の1例:メラニン定量分析と基礎病変についての考察」、第21回日本色素細胞学会(豊明)2007年12月9日
- 9) 吉田達郎、藤岡正剛、井藤彰、若松一雅、伊藤祥輔、山下利春、神保孝一、本多裕之。「4-S-CAP包埋型MCLによる悪性黒色腫に対する温熱化学療法」、日本生物工学会第58回大会(大阪)2006年9月12日
- 10) 高田知明、山下利春、佐藤牧人、酒本亜紀子、松坂英信、小野一郎、田村保明、佐藤昇志、井藤彰、本多裕之、若松一雅、伊藤祥輔、神保孝一。「NPrCAP/Mによるメラノーマ標的DDSと化学温熱免疫療法」、第65回日本癌学会学術総会(横浜)2006年9月28-30日。
- 11) 佐藤牧人、山下利春、小野一郎、田村保明、佐藤昇志、若松一雅、伊藤祥輔、井藤彰、本多裕之、神保孝一。「マグネタイト結合型システアミニルフェノール(NPrCAP/M)のメラノーマ細胞親和性と細胞死誘導」、第65回日本癌学会学術総会(横浜)2006年9月28-30日。
- 12) 酒本亜紀子、田村保明、佐藤昇志、山下利春、高田知明、小野一郎、井藤彰、本多裕之、若松一雅、伊藤祥輔、神保孝一。「メラノーマ標的ナノパーティクルNPrCAP/Mを用いた化学温熱免疫(CTI)療法における腫瘍免疫機構の解析」、第65回日本癌学会学術総会(横浜)2006年9月28-30日。
- 13) Wakamatsu K, Ito S, Hu D-N. Characterization of melanin in human iridal and choroidal melanocytes for eyes of various colors. XIIIth Annual Meeting of the PanAmerican Society for Pigment Cell Research, Cincinnati, Ohio, USA, September 7-10, 2006.
- 14) Ito S, Murakami K, Wakamatsu K, Nakanishi Y, Takahashi H, Sugiyama S. Melanogenesis and oxidative stress are both elevated in patients undergoing hemodialysis. 13th meeting of the European Society for Pigment Cell Research, Barcelona, Spain, 24-24 September, 2006.
- 15) 若松一雅、伊藤祥輔、Dan-Ning Hu。「ヒトの虹彩および脈絡膜中のメラニンの定量」、第20回日本色素細胞学会年次学術大会(松本)、2006年11月25-26日。
- (本多・井藤分担研究者)
- 1) Ito A, Nakahara Y, Fujioka M, Kobayashi T, Takeda K, Nakashima I, Honda H “Complete regression of hereditary melanoma in a mouse model by repeated hyperthermia using magnetite cationic liposomes” Japanese Journal of Hyperthermic Oncology Vol. 22, Supplement, 2006. The 4th ASHO & the 23rd JCHO (Nara), September, 2006.
- 2) 吉田達郎 藤岡正剛 井藤彰 若松一雅 伊藤祥輔 山下利春 神保孝一 本多裕之 「4-S-CAP包埋型MCLによる悪性黒色腫に対する温熱化学療法」日本生物工学会第58回大会(大阪)2006年9月12日
- 3) Hiroki Hayashi, Mina Okochi, Akira Ito, Ryuji Kato, Chiaki Kaga, Hiroyuki Honda “Screening of anti-tumor peptide vaccines with high affinity to hsp70 using peptide array” 43JPS・PEM4 (International Conference of 43rd Japanese Peptide

Symposium/ 4th Peptide Engineering Meeting) (横浜) 2006. 11. 5-8

- 4) Tanaka K, Ito A, Kobayashi T, Kawamura T, Shimada S, Matsumoto K, Shimada T, Honda H "Immunotherapy for melanoma using hyperthermia with magnetic nanoparticles and dendritic cells" 12th European Congress on Biotechnology (デンマーク コペンハーゲン) 2005年8月21日
 - 5) 井藤 彰、中原陽子、藤岡正剛、小林猛、武田湖州恵、中島 泉、本多裕之「RETトランスジェニックマウスに発生したメラノーマに対する磁性微粒子を用いた温熱療法の治療効果」第64回日本癌学会学術総会(札幌)2005年9月14日
 - 6) 井藤 彰、田中功二、小林 猛、川村龍吉、島田眞路、松本和彦、斎田俊明、本多裕之「未熟樹状細胞を用いたHeat Immunotherapyの開発」日本ハイパーサーミア学会第22回大会(岡山)2005年9月23日
 - 7) 林 宏樹、大河内美奈、井藤彰、本多裕之「ペプチドチップを用いたHsp70結合ペプチド癌ワクチンの探索」日本化学会第86年会(千葉)2006. 3. 27-30
- (山下分担研究者)
8. Tominaga A, Yamashita T, Ono I, Kunisada T, Jimbow K. Identification of melanocyte stem cells from vibrissal hair bulge of DCT-LacZ transgenic mice and their growth control: In: 66th Society for Investigative Dermatology : 2005 May 3-May 5: St. Louise, USA.
 9. Hida T, Yamashita T, Hirosaki K, Jin H, Kokai Y, Jimbow K. Induction of dominant negative mutant Rab7 causes vesicular transport of TYRP1 different from that of other melanosomal proteins, tyrosinase and gp100. In: 66th Society for Investigative Dermatology : 2005 May 3-May 5: St. Louise, USA.
 10. Kamiya T, Ogino J, Kawakami A, Yanagisawa K, Kageshita T, Yamashita T, Jimbow K. Unique DNA microarray features of Japanese melanoma patients and co-expression of cyclin D1 and phosphorylated Rb by immunohistochemistry as a poorer prognostic marker for overall survival. In: 6th World Congress on Melanoma: 2005 Sep 6-10: Vancouver, Canada.
 11. Jimbow K, Yamashita T, Hirosaki K, Shinoda K, Kamada A, Endo M, Tominaga A, Inoue H, Hida T. Melanogenesis cascade and biology of normal and abnormal pigmentation. In: 19th International Pigment Cell Conference: 2005 Sep 18-23, Reston Virginia, USA.
 12. Inoue H, Yamashita T, Jin H-Y, Sakauchi F, Kageshita T, Takata M, Saida T, Jimbow K. Val92Met of MC1R is highly associated with Japanese non-acral melanoma. In: 19th International Pigment Cell Conference: 2005 Sep 18-23, Reston, Virginia, USA.
 13. Yamashita T, Jin H-Y, Sasaki Y, Tokino T, Ono I, Jimbow K: Induction of apoptosis in melanoma cells by p53 family proteins. 19th International Pigment Cell Conference: 2005 Sep 18-23, Reston, Virginia, USA.
 14. Yamashita T, Jin H-Y, Sasaki Y, Tokino T, Ono I, Jimbow K: p63 modulates transcription of multiple cellular genes in melanocytes. In: 19th International Pigment Cell Conference, Satellite Meetings (Melanoma): 2005 Sep 18-23, Reston, Virginia, USA.
 15. Hida T, Yamashita T, Hirosaki K, Jin H-Y, Kokai Y, Bennett DC, Jimbow K. Dominant negative Rab7 differentiates vesicular transport of TYRP1 from other melanosomal proteins. In: 19th International Pigment Cell Conference: 2005 Sep 18-23, Reston, Virginia, USA.
 16. Jimbow K, Takada T, Yamashita T, Sato M,