

厚生労働科学研究研究費補助金  
第3次対がん総合戦略研究事業

がん治療のための革新的新技術の  
開発に関する総合的な研究

平成19年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 西條 長宏

平成20（2008）年 4月

## 目 次

I. 総括研究報告	
がん治療のための革新的新技術の開発に関する総合的な研究	1
西條長宏	
II. 分担研究報告	
1. 3次元体表座標を用いた高精度放射線治療システムの開発	14
伊丹 純	
2. 陽子線治療における革新的新技術の開発	16
荻野 尚	
3. 高精度放射線治療を含む臨床研究における精度管理システムの開発	19
角 美奈子	
4. 切除不能肺悪性腫瘍に対するラジオ波熱凝固療法に関する研究	22
渡辺 俊一	
5. precision-guided surgery (PGS: 精密誘導手術) を誘導する技術の開発	24
伊関 洋	
6. 新たな治療支援機器装置の開発に関する研究	26
小林 寿光	
7. 画像機器を用いた皮膚悪性腫瘍に対する手術方法の開発	32
山崎 直也	
8. 早期胃癌に対する合理的治療法の開発	34
佐野 武	
9. 泌尿器科がんに関する新しい手術法の開発に関する研究	36
藤元 博行	
10. がん治療のための革新的新技術の開発研究	38
(局所再発癌に対する合理的な手術法の開発)	
森谷 亘皓	
11. 放射線化学療法後に切除可能となった膵癌の安全な切除法と術後管理の開発	42
木下 平	
12. 肝細胞がん予防ワクチンを目指した臨床的研究	44
野村 和弘	
13. 科学的根拠に基づくがんの免疫療法の開発	46
中面 哲也	
14. 治療抵抗性腫瘍に対する受動免疫療法の開発研究	48
平家 勇司	
15. ナノバイオ・ウイルス製剤と放射線の相互作用機構に関する研究	50
藤原 俊義	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	52
IV. 研究成果の刊行物・別刷	62

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）  
総括研究報告書

がん治療のための革新的新技術の開発に関する総合的な研究

主任研究者 西條 長宏 国立がんセンター東病院副院長

研究要旨 陽子線照射による患者体内原子核の核破砕反応により生成されるポジトロン放出核の活性測定により照射領域を確認する回転ガントリーポートに設置した beam on-line PET system (BOLPs) を開発した。このシステムを利用することで陽子線治療中の患者に対し計画通りに陽子線が腫瘍に照射されているかを確認できた。肺の定位放射線治療などで応用可能な治療計画装置と治療装置における呼吸周期システムと撮像条件の検討を行った。呼吸周期システムの導入によって数十秒間の呼吸停止が困難な症例でも正確な治療計画が可能と示唆された。悪性脳腫瘍の摘出手術の際、5-ALA と光線力学的診断と術中 MRI、覚醒下手術の併用により悪性脳腫瘍の5年生存率を約42%まで向上させた。レザフィリンとレーザーを用いた光線力学療法の追加効果に関する臨床試験を開始した。切除不能肺悪性腫瘍に対するラジオ波凝固治療の臨床試験を開始した。合併症として気胸に対するドレナージ、硬膜外麻酔を必要とする胸痛が経験されたが重篤な合併症はなかった。骨盤壁に浸潤する局所再発がんに対する仙骨合併骨盤内臓全摘術を85例に対し行った。5年生存率は50%以上であった。過大な手術浸襲が必要な本術式の過程で静脈性出欠および腸瘻防止手術法を開発した。 $\alpha$ GalCer+IL-2 刺激リンパ球培養に適した培養液および培養バッグを開発し健常者および癌患者のリンパ球が効率よく増強することを確認した。患者末梢血中のがん特異的抗原 (GPC3)、HSP105 特異的 CTL の最適な検出法を確立した。国立がんセンター東病院において肝細胞がんの特異的に高発現する GPC3 を標的とするペプチドワクチンを第 I 相試験を開始し現在レベル 2 で試験継続中である。テロメライシン (OBP-301: 腫瘍融解ウイルス) は放射線照射と相乗的に抗腫瘍活性を示した。放射線照射がアデノウイルスの感染効率を向上させると示された。また、OBP-301 感染によりアデノウイルスの E1B55KDa 蛋白が誘導され Mre11 の分解を促進することで ATM のリン酸化を阻害し放射線感受性を増強すると示された。

分担研究者 西條 長宏  
国立がんセンター東病院  
副院長  
伊丹 純  
国立国際医療センター  
医長  
荻野 尚  
国立がんセンター東病院臨床  
開発センター  
部長  
角 美奈子  
国立がんセンター中央病院  
医長  
渡辺 俊一  
国立がんセンター中央病院  
医員  
伊関 洋

東京女子医科大学先端生命医  
科学研究所  
教授  
小林 寿光  
国立がんセンターがん予防・  
検診研究センター  
室長  
山崎 直也  
国立がんセンター中央病院  
医長  
佐野 武  
国立がんセンター中央病院  
部長  
藤元 博行  
国立がんセンター中央病院  
医長  
森谷 亘皓

国立がんセンター中央病院  
部長  
木下 平  
国立がんセンター東病院  
部長  
野村 和弘  
東京労災病院  
病院長  
中面 哲也  
国立がんセンター東病院臨床  
開発センター  
室長  
平家 勇司  
国立がんセンター中央病院  
医長  
藤原 俊義  
岡山大学医学部・歯学部附属  
病院  
遺伝子・細胞治療センター  
准教授（副センター長）

#### A. 研究目的

陽子線治療は身体の深部に存在する腫瘍の照射に有効な手段であるが治癒率、QOLの向上を目指しDAPTのシステムを構築し高精度の陽子線治療を行う。一方、治療計画装置の導入によってリニアックによる治療効果の向上も期待される。有害事象の軽減・放射線治療のコスト軽減を目指し画像情報に基づく放射線治療計画の精度向上を行う。耐術性のないHigh risk肺がん患者に対し低侵襲かつ簡便な治療法としてラジオ波熱凝固療法を導入しその適応を明らかにする。患者のQOLおよび根治性の向上のため術中MRI画像によるナビゲーション技術を用い精密かつ確実な過不足のない腫瘍の摘出を行う。胃がん、大腸がん、膵がんについて限局型の進行がんに対し合理的手術療法を開発し、機能温存と治療成績向上を目指す。腫瘍ワクチン療法、ウイルス療法、細胞免疫療法を開発するとともに他の治療法との至適併用方法を明らかにする。これらの検討は全て行政への反映（保険適応のある治療法）を視点に入れて行う。

#### B. 研究方法

陽子線照射による患者体内原子核の核破砕反応により生成されるポジトロン放出核を情報因子として、崩壊後に放出される消滅 $\gamma$ 線対を同時計測することで、患者体内での陽子線照射領域を可視化し、リアルタイムで観測する。その為に、陽子線回転ガントリーに開発したbeam on-line PET system (BOLPs)を設置する。また、専用の解析機能を搭載したviewerシステムの構築を実施する。BOLPsを利用し、生成ポジトロン核の強度・分布の可視化シミュレーションするための核

破砕反応メカニズムの解明の基礎的研究、そして、BOLPsの臨床利用を開始する。

核破砕反応メカニズムの解明においては、ポリエチレン、水、塩化カルシウムをターゲットにして、陽子線のエネルギーに異存した、 $^{12}\text{C}(p, X)^{11}\text{C}, ^{10}\text{C}$ 、 $^{16}\text{O}(p, X)^{15}\text{O}, ^{14}\text{O}, ^{13}\text{N}, ^{11}\text{C}, ^{10}\text{C}$ 、 $^{40}\text{Ca}(p, X)^{39}\text{K}, \dots$ 、の反応断面積の実験を実施する。臨床利用においては、陽子線治療実施患者で頭頸部、前立腺、肝臓、肺及び脳の18症例について、日々の治療での陽子線照射領域を観測した。BOLPsにおける計測は、ビーム照射中+200秒間で実施する。初回の治療で得られた可視化画像をリファレンスとして、それ以降の日々の陽子線治療で得られる可視化画像との時系列変化を追跡観測する。

レーザースキャンを用いた方法で体表座標を採取する体表計測装置を開発、更に、基準体表座標と計測体表座標の定量的ずれを表示する体位再現支援装置も開発してきた。体表計測装置および体位再現支援装置のハードおよびソフトの改良を行う。改良の方向としては、計測装置においてはスキャン時間の短縮化を図る。体位再現支援装置においては、位置ずれ表示までの時間の短縮化を図るとともに、ずれのベクトル表示方法を開発する。更に、ずれの6軸での偏移への換算および表示法を確立する。校正用器具の開発も行う。また、ファントム実験を行いずれ表示の精度を検討し、更に実際の臨床試用を行い、体表座標再現がアイソセンター再現に有用であることを確認する。

高精度放射線治療における精度管理を目的としたシステムの開発については、治療計画画像取得の鍵となるのがCT架台の精度管理であり、研究の開始にあたり精度管理に必要な要件を解析し、精度管理のシステム化について検討を行う。システム開発においてはファントムによる精度評価と解析にひきつづき、必要な時間制約について検討する。画像情報共有システムの開発に関しては、最先端の画像情報の特徴と治療計画に応用する際の注意点について情報収集と整理を計画する。特に、近年胸部画像診断領域で注目されている呼吸同期システムに関し、IGRTにおける応用についてまず問題となる撮像条件に関する検討を行う。

悪性脳腫瘍の5年生存率向上を目的として術中MRIと(DWI)ナビゲーションで95%以上摘出し、光線力学診断で100%摘出を目指す。次に、PDレーザ664nmによる光線力学治療で、境界内のレーザの到達深度数mmにある残存腫瘍細胞治療する。具体的には、手術摘出予定時間の約24時間前に、レザフィリン静注後、光線力学診断で、残存腫瘍を表面からそぎ落とし、全摘出を目指す。さらに励起されなくなった時点で、境界内数mm内に残存する腫瘍細胞に光線力学治療を実

施する。

臨床病期 IA 期の原発性肺癌で、手術も定位放射線治療もできない患者が転移性肺腫瘍で、手術では肺の切除量が多くて適応外となる患者を対象としてラジオ波熱凝固治療を行う。

胸膜直下の病変の場合、あらかじめ硬膜外麻酔を挿入する。局所麻酔の後、CT 透視下に病変の位置を同定、穿刺針を挿入する。焼灼によって組織が加熱脱水を生じ、インピーダンスが急激に上昇し電流が流れにくくなる状態(ブレイクと呼ぶ)まで通電を続ける。ブレイクしない場合には 15 分程度の通電を続けた後に、CT を撮像し病変周囲に全周性にスリガラス上の濃度上昇 (surrounding GGA) が生じたことを確認して終了とする。病変の大きさに応じて複数回に渡って穿刺を行い、病変全体がもれなく焼灼されるようにする。治療終了後に CT にて気胸、出血の有無を確認する。その後外来にて定期的に CT、採血、PET 等による経過観察を行う。今年度は安全性の検討を中心に行う。

術前内分泌療法を施行しない局所前立腺癌で根治的前立腺全摘症例を対象に前立腺生検による影響を極力回避する目的で手術直前に 3.0 Tesla MRI にて前立腺を撮像する。MRI は T1, T2 強調画像、造影画像並びに拡散強調画像を撮像する。造影画像は動脈相、静脈叢にわけて撮像する。それぞれの画像に基づき腫瘍の検出力、前立腺周囲の構造、尿道移行部の形態、血管の分布状態などを検討する。具体的には術前評価としてそれぞれの所見を記載し手術を行う。術後は術前評価に対する評価を記載する。最終的には病理結果と画像を比較し、局在、切除断端、神経血管束に対する浸潤の診断力などを検討する。

胃切除の再建法および術後経過期間別に、ダンピング症候群の発生を中心とした QOL 評価を行い、早期胃癌に対する望ましい手術法を探る。内視鏡による早期胃癌病変周囲へのトレーサー注入と高解像度 CT の組み合わせにより、センチネルリンパ節 (SN) の同定を試みる。ブタを用いて基礎実験を行い、トレーサー注入の安全性を確認し、注入後 CT 撮影までの最適なインターバルを決定する。これに基づき、早期胃癌患者を対象とした臨床試験を計画する。

切除不能局所進行膵がん down staging 後の外科切除手術の適応を含めた問題点につき検討する。局所進行膵がんに対する GEM+S-1 全身化学療法を先行させた放射線化学療法の II 相試験において、画像上切除の意義ありと判断された 6 症例を対象とする。特に治癒切除可能であった 3 症例について外科切除時の問題点、手技上の注意点、経過、術後管理上の問題点、予後を検討することにより、salvage surgery の意義について考察する。

‘92 年から’ 05 年に FRT に対して R0 切除が行われた TPES を行った 48 例を対象として、再発腫瘍を取り囲む線維化の程度を病理学的に次の 3 群に分類し (f 分類)、脈管侵襲などの病理学的因子、術前 CEA 値、仙骨切断レベルとの遠隔成績に及ぼす関係を検討する。：線維化を認めないもの (f0)、部分的に線維化を認めるもの (f1)、線維化が腫瘍を完全に取り囲むもの (f2)。術中出血量の減少と骨盤死腔炎などの合併症減少を目的として、TPES (85 例) を行った一例一例を手術手順の面から検討し、骨盤内静脈系の鬱血を回避する手術手順を検討する。

進行肝細胞がん患者を対象とした GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験では、投与回数を 2 週間おきに 3 回、投与量を 0.3, 1.0, 3.0 mg の 3 段階とし、安全性を確認しながら投与量を増量する。免疫学的モニタリングと RECIST 基準による臨床効果を総合的に判定して、次相の至適投与量を定める。HLA-A24 あるいは -A2 陽性の術前大腸がん患者 21 人を対象に、IFN- $\gamma$  Elispot assay により、末梢血単核球 (PBMC) 中の HSP105 特異的 CTL の頻度を検討する。熊本大学との共同研究により、HSP105 蛋白パルス樹状細胞ワクチンにより APC<sup>Min/+</sup>マウスの腫瘍発生を抑制できるかどうかを検討する。

14 種類の細胞培養液と、18 種類の培養バッグ素材から、全細胞数、NK・NKT 細胞数、インターフェロン産生能、K562 に対する殺細胞効果を指標に、最適な培養液並びに培養バッグの組成を決定する。最適な培養液と培養バッグを組み合わせ、少量スケールの培養システムを構築し、健常者ボランティアとともに臨床試験の対象となる患者末梢単核球より、 $\alpha$ GalCer+IL2 刺激単核球を培養し、その増殖効率並びに培養単核球の性質を解析する。最終的に、完全閉鎖の一貫した細胞製造システムとして確立した後、健常者末梢血を用いて臨床投与と相当量の製造法の検証を行うと共に、培養細胞の表面マーカー、腫瘍細胞に対する殺細胞効果、各種サイトカイン産生などの物性試験とともに、エンドトキシンテストや動物を用いた毒性試験を行う。

培養細胞レベルおよびマウスモデルにおけるテロメライシンと放射線の併用効果の検討とその相互作用機構の解析を行い、その研究成果をもとに進行固形癌に対する臨床研究 (臨床試験) を推進する。In vitro におけるテロメライシンと放射線の併用効果を XTT アッセイにて検討する。ヒト肺癌細胞 A549 に 1~25Gy の放射線を照射し、直後に 0~10MOI (multiplicity of infection) のテロメライシンを感染させた場合とテロメライシンの感染後 24 時間に放射線照射した場合を設定し、5 日後に生細胞数を測定する。A549 細胞に 1~10Gy の放射線を照射し、その直後に GFP 蛍光遺伝子を発現する非増殖型ア

デノウイルスベクターAd-GFP を感染させ、蛍光顕微鏡下、およびフローサイトメトリーにて蛍光強度を比較する。テロメライシン感染が放射線による DNA 障害の修復に及ぼす影響を検討する。A549 細胞にテロメライシンを 10MOI で感染させ、24 時間後に 3Gy の放射線を照射し、DNA 修復に関与する蛋白質の発現をウエスタンブロットにて解析する。

### C. 研究結果

核破砕反応メカニズムの解明を目的とした<sup>16</sup>O(p, X)<sup>15</sup>O, <sup>14</sup>O, <sup>13</sup>N, <sup>11</sup>C, <sup>10</sup>C 反応の反応断面積について、予測される計算値に近い傾向を示した。治療部位毎の陽子線照射領域の可視化画像を得ることが出来た。頭頸部(副鼻腔腫瘍)の陽子線治療においては、治療途中での腫瘍の変化に対応した照射領域の可視化画像の変化を観測することが出来た。測定時間の経過における消滅γ線検出数の減少傾向から治療部位毎の半減期特性の算出、則ち、陽子線照射によって治療部位毎にどのような種類のポジトロン放出核が生成されたかの情報を得ることが出来た。

レーザースキャンを用いた体表計測装置の研究開発により、スキャン時間を 0.1 秒にまで高速化することが可能となった。当初は 20 秒近くを要したことからすると絶大なる進歩である。また、体表座標計測装置重量も 5kg まで軽量化できた。体位再現支援装置にあつては、ずれ表示までの時間を 1 秒以内に収めることが可能となった。また、ずれの絶対値はカラーディスプレイされるが、ずれ方向の表示も工夫して同時表示されるように改良した。また ROI を自由に設定でき、その範囲における 6 軸偏移量が計算可能とした。ファントム実験の結果は、XYZ 方向のずれ表示で 2mm 程度の誤差が生じることが明らかとなり現在改良中である。実際の患者に当システムを試用したが、上半身照射の場合には皮膚の 3 点マーカが合致しても特に上肢および頸部の位置のずれが大ききことが示された。

放射線治療架台と CT 架台の精度管理に関し、当院に 2005 年度に設置された放射線治療計画専用 CT システムの架台と 2007 年に設置された IGRT 対応放射線治療装置の架台について、QA データおよび臨床データを使用し検証した。設置時および定期点検時の架台精度の検証データの解析により、架台の精度管理に関するシステム化と架台変位計測システムの要件を策定した。CT 治療計画と Cone Beam CT および Body Array を用いた臨床データの解析により、従来十分検討されていない架台の荷重によるたわみが高精度放射線治療時の位置精度管理へ影響していることが示唆された。

肺の定位放射線治療などで応用可能な、治療計画装置と治療装置における呼吸同期システム

と撮像条件の検討を行った。同一の呼吸同期システムを導入した治療計画用 X 線 simulator と放射線治療計画用 CT を使用し放射線治療計画を作成し、IGRT 対応高精度放射線治療装置においてファントムおよび臨床データによる検証を行った。呼吸同期の導入により数十秒の呼吸停止も困難な症例において、呼吸同期による治療計画が可能であることが示唆された。

PDT の実施環境の整備を行った後、3 例の術中および摘出標本による 405nm と 664nm のレーザによる PDD と一例の 664nm レーザによる PDD/PDT を経験した。5-ALA による病理診断結果による蛍光情報の郡分け(腫瘍、境界、非腫瘍)を実施した。全 38 症例中 9 症例のグレード 4 の患者で群分けを実施した。全 72 組織中で、腫瘍組織は 22 個、境界組織は 26 個、非腫瘍組織は 24 個である。腫瘍組織では PpIX の集積が高く、非腫瘍組織では低い。境界組織では腫瘍、非腫瘍両方の特徴が見られ、中にはピーク波長がシフトしている組織も観察された。

肺がんに対する局所麻酔下ラジオ波熱凝固療法によりこれまでのところ気胸でドレナージを要した例が存在するのみでその他の重篤な合併症は生じていない。胸膜に近接した病変については、硬膜外麻酔を併用しているが、それでも術中疼痛が強い例が存在した。

2007 年 6 月から 60 例に術前 3.0Tesla MRI にて前立腺を撮像し、前立腺全摘術を行った。3.0Tesla MRI 前立腺像は従来の 1.5Tesla MRI 像と比して前立腺内部構造、周囲の構造、周囲の血管までより鮮明に描出でき、それらは術中所見と一致しているように思われた。とくに前立腺尖部の構造の理解はこの手術を癌の確実な制御のみならず出血のコントロール、また尿道括約筋の確実な温存に対して貢献した。今回 3.0Tesla MRI により術者が頭に描いた形態と術中所見は非常によく合致していた。左右の張り出しの違いや尿道移行部の場所、周囲の血管の状況などはまさに MRI からうける印象の通りであった。しかし術前画像から得たイメージと前立腺尖部の処理の難易度は必ずしも当てはまらなかった。また癌の検出についてはこれまでの検討ではいわゆる前立腺の辺縁域においては良好な癌検出力を有しているように思われるが、境界域における診断には熟練を要するのではと思われる。今後病理結果と総合して診断能力が向上できるか検討する。

胃切除後半年～5 年までの無再発患者 1000 名を対象に、独自に開発したスケールを用いた聞き取り調査を行った。平成 20 年 1 月時点でほぼ終了し、解析を開始する。

ブタを用いた実験の準備を進め、トレーサーを選択し実施計画を作成した。平成 20 年 4 月から実験を開始する。早期胃癌患者を対象とした

臨床試験のプロトコールを作成中である。

局所進行膵がんに対する GEM+S-1 全身化学療法を先行させた放射線化学療法の II 相試験において、登録 20 症例中画像上切除可能判断された 6 症例に対し開腹手術を行った。3 症例は治癒切除不可能と判断されたが 3 症例に切除手術が行われた。1 症例は腹腔動脈切除を伴う膵体尾部脾切除根治手術が行われ、2 症例に門脈合併切除を伴う膵頭十二指腸切除が行われた。このうち 1 症例では術中上腸間膜動脈(SMA)血栓による血流障害のため、結果的に SMA 合併切除を余儀なくされた。術中放射線照射部位の組織は剥離困難で、膵臓も線維化が高度のため、切除断端の肉眼所見での判定は困難で術中迅速診断が必須と考えられた。3 症例 1 例は術後に起こった遅発性の胆管空腸吻合の縫合不全により、多臓器不全、DIC を発症して術死した。この症例では切除標本の組織学的検索の結果 CR が確認された。残る 2 症例は 3 ヶ月で肝転移再発、4 ヶ月で胸膜、縦隔リンパ節再発を来し、8 ヶ月で死亡した。

FRT に対する合理的な手術法として TPES を 85 例行い手術適応を確立した。1. 骨盤内に限局する単発再発巣 2. Sciatic notch や sacral promontory など高位再発ではない。3. 外腸骨動静脈やソケイリンパ節に浸潤を疑わせる下肢浮腫や下肢に放散する疼痛がない。4. 切除可能単発肝転移例は適応から除外しない。5. 75 歳以下で手術内容や術後 QOL が理解できる。以上 5 項目を適応基準とした。5 年生存率 50%以上の成績が得られ、手術単独の成績としては良好で、国内外から注目されている。静脈性出血量減少を図る手術手順を確立した。重篤な合併症に小腸会陰瘻がある。

IFN- $\gamma$  Elispot assayなどを用いて、患者末梢血中のがん特異抗原GPC3、HSP105特異的CD8陽性キラーT細胞(CTL)の最適な検出法を確立した。これによりペプチドワクチンの免疫学的有効性を確認するためのモニタリングの手法がほぼ確立した。進行肝細胞がん患者を対象としたGPC3を標的とするペプチドワクチンの臨床第 I 相試験は、3.0 mg投与のあと2例を登録し、計20例で完了する。現在まで全例において安全性に問題はなく、免疫学的解析が終了した14例中12例に、ペプチドワクチン投与による末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度の増加が検出され、免疫学的有効性も確認された。3回のペプチドワクチン投与後1ヶ月後(初回投与から2ヶ月後)のRECIST基準によるCTの評価では16人中10人がSDで6人はPDであったが、0.3mgの6人中3人、1.0mgでは6人中4人、3.0mgでは4人中3人がSDで、SD率には投与量依存性が示唆され、実際に3.0mg投与の4例には腫瘍マーカーの減少や腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小など臨床効果も認められた。

また、がん特異抗原 HSP105 については、術前大腸がん患者末梢血中に 21 例中 14 例(67%)と高率に HSP105 特異的 CTL が検出できた。また、APC<sup>Min/+</sup>マウスの腸の腺腫に HSP105 が高発現していることを明らかにし、HSP105 蛋白パルス樹状細胞ワクチンにより、APC<sup>Min/+</sup>マウスの腫瘍発生を抑制することができた。その抗腫瘍免疫効果には、HSP105 抗原に特異的な CD4 陽性ヘルパー T 細胞および CTL が主に関与していることを証明した。

リンパ球培養のための最適培地と最適培養液を選択し、その両者を組み合わせて、新たな培養システムを確立した。構築した培養システムは、欧米で臨床使用されている培養液と培養バッグの組み合わせを、上回る増殖効率であった。全細胞で評価した増殖効率は、検討した全症例でほぼ同等であるものの、各免疫担当細胞の構成比率の個体差は大きく、NK・NKT 細胞の増殖効率が悪い例も見られた。担がん患者は、総細胞数でみた場合、健常者とそん色のない増殖効率が得られるものの、総じて NKT 細胞の増殖効率は低かった。NKT 細胞の増殖効率と、培養液中へのインターフェロン産生量は相関がみられた。培養液の成分は動物由来物質を含まず、可能な限り合成物を用いたものとし、いずれも原材料の入手ルートを明確とした。培養バッグの素材も、可能な限りの情報を入手した。培養システムの形状を、アフエレーシスから投与用バッグへの充填までの作業に合わせて組み立てることにより、完全閉鎖系の培養システムとした。これらにより、臨床使用可能な培養システムが確立できたと考えた。

研究室内に、患者投与用細胞培養のためのユニットを構築したうえで、上記の確立した培養システムを用いて、健常ボランティア・アフエレーシス血から臨床スケールでの培養を行った。その結果、治療に必要な量の $\alpha$ GalCer+IL2 刺激単核球が得られると共に、培養細胞が培養がん細胞に対する殺細胞効果を有すること、インターフェロンを産生すること、NOD/SCID マウスを用いた *in vivo* 試験にて抗腫瘍活性を有すること、急性毒性を示さないことを確認した。

テロメライシンと放射線の併用効果 (*in vitro*) を検討しその作用機序を解析した。テロメラゼ構成成分である *hTERT* 遺伝子のプロモーターを用いて作成した腫瘍融解ウイルスのテロメライシン(Telomelysin, OBP-301)の感染を先行させ、24 時間後に放射線照射した場合と、逆に放射線照射直後にテロメライシンを感染させた場合、CalcuSyn ソフトを用いた Combination Index (CI)を算出したところ、いずれにおいても容量依存性に相乗効果が認められた。

放射線照射により、容量依存性に蛍光顕微鏡

下での GFP 発現細胞の比率が上昇し、さらにフローサイトメトリーで測定した MFI (mean fluorescent intensity) も増強した。すなわち、放射線はアデノウイルスの感染効率を増強した。

放射線による細胞の二重鎖 DNA 障害により Mre11 蛋白質複合体が誘導され、ATM のリン酸化を促すことで DNA 修復が進むことが知られている。テロメライシンの感染によりアデノウイルスの E1B55kDa 蛋白質が誘導され、Mre11 の分解を促進することで、ATM のリン酸化を阻害することが明らかになった。ウエスタンブロット解析では、E1B55kDa 蛋白質の発現と相関してテロメライシン感染で Mre 蛋白質の発現レベルが減少し、テロメライシンの前感染で放射線により誘導される ATM のリン酸化が阻害された。すなわち、テロメライシン感染は放射線による DNA 修復を阻害することで、放射線感受性を増強した。

#### D. 考察

核破碎反応メカニズムの反応断面積に関する基礎研究においては、まだ、測定データの統計精度が悪いが、今後、測定データの蓄積を継続することによって精度は向上すると思われる。臨床利用から得られた照射領域の可視化データについては、更に可視化データの変化の解析を進捗させることで、陽子線治療期間中における腫瘍の縮小など患者状態の変化を定量的に算出及び評価が可能となる。計画された領域に対して的確に陽子線が照射されていることを担保することで、患者ごとの時系列的な状態の変化に対応した高精度の陽子線治療を提供出来るものと期待できる。

レーザー स्क्यानを用いた体表計測装置の導入により体幹部各部の動きが定量的に表示可能となったことにより放射線治療時の位置決めがより定量的に可能となった。更に当システムでは被曝を全く伴わないことから連続で使用することが可能であり、いわゆる interfractional なずれだけではなく、intrafractional (照射中) なずれの定量的把握も可能となることは大きな進歩である。

架台精度が高精度放射線治療時の位置精度管理へ影響することが明らかとなり、現在開発を進めている架台精度管理に関するシステムでは、架台の荷重によるたわみや回転及び移動にともなう上下左右方向への変位を、レーザー及び画像解析による一元管理システムとして検討中である。

最先端の画像情報を治療に応用するための画像情報共有システムの開発に関して本年度に研究を開始した呼吸同期システムは、定位放射線治療を含む IGRT に関して、肺癌をはじめ肝臓癌

などさまざまな腫瘍への応用が可能である。十分な呼吸停止が負担となる症例において、呼吸同期が安定的に可能となることは高精度放射線治療の適応拡大に大きな意義があると考えられる。

MRI は安全サイドへ判別する傾向がある。境界組織の判別が特に悪く、全体の正判別率は正答数 40 ÷ 全体の数 72 で 55.6% である。腫瘍を境界と判断、または境界を腫瘍と判断するエラーは安全性の観点からみて問題は少ないが、非腫瘍を腫瘍や境界と判断するエラーは切除範囲の拡大の危険があり十分な検討を要す。

ラジオ波を用い肺がんの局所制御を行う方法は重篤な合併症を伴わず、有望な局所療法と考えられる。さらに肺線維症あるいは間質性肺炎など従来の放射線治療では治療適応外とされた症例に対してもラジオ波熱凝固療法は問題なく施行しうることも確認できた。またラジオ波熱凝固療法は焼灼後の局所再発症例に対しても繰り返し施行が可能である。従来は緩和ケアに回っていた患者を救済することができる可能性がある。

前立腺癌の位置を正確に把握することは手術適応の決定、神経温存術適応の決定、切除断端確保などにつながると思われる。特に前立腺全摘術切除断端陽性例の多くは尖部において陽性であり前立腺尖部における腫瘍の進展を術前に把握することは重要である。今後の検討課題として内腺領域の腫瘍描出能の評価、神経温存術適応決定のため神経血管束の術前評価などが挙げられる。

切除対象となる胃がんに対しさまざまな色素や RI を用いたセンチネルリンパ節同定の試みが臨床的に進められてきたが、胃癌では偽陰性率が高く、実用に耐えるものはまだない。本研究は術前に高解像度 CT により部位を特定しておいて手術にのぞむという新しい手法である。

造影剤を胃の粘膜下に注入することの局所の安全性、およびそれがどういう時間でリンパ節に取り込まれ、撮影可能となるかについて、まず動物実験で確認してから臨床試験を開始する予定である。

放射線化学療法後膀胱がんの切除可能とする画像診断上の所見のさらなる検討が必要と考えられた。切除に際しては前述した照射野内の血管の剥離には十分な注意が必要なこと。術後管理上も遅発性の合併症対策の必要性も痛感した。結果的に十分な予後の延長が現在のところ得られていない事が salvage surgery の問題点として挙げられる。

直腸癌局所再発に対する治療法として、5 年生存率 50% 以上が報告されている治療法は仙骨合併骨盤内臓全摘術のシリーズ以外にない。再発様式を検討すると肺再発が 37% と最も高い。うち半数は手術適応のある肺転移である。した



がって、術後肺転移に対する治療法を確立できれば治療成績の更なる向上が期待できる。

GPC3 ペプチドワクチンの第I相試験の評価を終えた後、次年度以降に臨床第II相試験を実施する。再発率が高い肝細胞がんの根治的治療後の再発予防効果を評価する臨床試験と、肝硬変患者の肝細胞がん発症予防効果をみる臨床試験も計画している。マウスでの研究ではワクチンの効果は投与量に依存する結果が出ていたが、投与量 3.0mg で見られている臨床効果は投与量依存性を示唆するものであると考えている。従って、進行肝細胞がん患者に対してさらに投与量や投与回数を増やす臨床試験も計画、実施する意義もあると考える。

HSP105 は大腸がん、食道がん、乳がん、膵がん、メラノーマなど多くのがんに高発現している汎用性の高いがん特異抗原であり、今後HSP105 を標的とした免疫療法の臨床応用も目指す。

既存の臨床使用可能な培養液と培養バッグの組み合わせを上回る、新たなリンパ球培養システムが構築できた。培地で使用する原材料は、動物由来を含まず、可能な限りヒト由来成分も含まないものとし、培養バッグの原材料も医療用に承認された素材を用いており、臨床で使用する条件を満たしていると考えられる。このシステムが確立できたことにより、細胞培養を製剤製造と同じ基準で製造・評価可能となり、細胞療法確立研究の第一歩が踏み出せると考えられる。また、培養細胞製剤の物性試験と安全試験も行っており、臨床試験実施に必要な全臨床試験がほぼ終了したと考えている。今後、確立した培養システムを用いて製造した細胞製剤を用いた臨床試験を行なっていく予定である。

テロメライシンの各種進行固形癌に対する第I相臨床試験は、米国で現在までのところ順調に進行中であり、その安全性に関する情報は集積されつつある。本研究により、放射線がアデノウイルスの感染効率を増強し、またテロメライシン感染が放射線によって生じるDNA障害の修復を阻害することで、双方向性の相互作用機構が存在することが明らかになった。テロメライシンによる放射線感受性増強はアデノウイルスE1B55kDa蛋白質による機能であり、その部分を欠損している他の制限増殖型ウイルス製剤Onyx-015では同様の相乗効果は認められないはずである。*In vivo*における相乗効果や至適スケジュールの検討は、臨床応用を考える上で重要なデータであり、組織学的検討を含めた動物実験を今後進めていく予定である。

#### E. 結論

陽子線治療についてはDAPTの研究は国内外での検討は行われていない。一方、これが実現され

た場合の治療精度向上による患者への貢献度は極めて高い。体表3次元座標を放射線治療における体位再現にレーザスキャンを用いることにより短時間で正確な演算ができるとともに放射線被曝を全く伴わないことが特色である。わが国の特性として放射線診断と治療医が共通の場で教育されてきたため画像情報に基づく治療計画はより制度高く行うことが可能である。肺腫瘍に対するラジオ波熱凝固療法は未だ開始されたばかりであり、prospectiveに行いガイドライン作成に寄与することは重要である。精密誘導手術支援システムの開発で、単体での技術開発はなされているが総合システムとして構築を行っているものは皆無である。本研究で用いられるGPC3とHSP105がん特異的抗原は国立がんセンターで開発され様々ながんに発現している。細胞免疫療法は国内外の施設で散発的に試みられているが、わが国には行政的視点も含めた臨床開発は皆無である。また本研究では宿主免疫反応の経時的解析が可能であり至適免疫療法導入が可能と予測される。腫瘍融解ウイルス(テロメライシン)による治療はユニークな遺伝子治療であり他の治療法との作用で優れた効果が期待される。このように革新的な局所療法及び全身療法の開発とその至適化によりがんに対する最適の治療法が具体化すると思われる。

#### F. 健康危険情報

なし

#### G. 研究発表

##### 論文発表

1. Sugiyama E, Kaniwa N, Kim S-R, Kikura-Hanajiri R, Hasegawa R, Maekawa K, Saito Y, Ozawa S, Sawada J, Kamatani N, Furuse J, Ishii H, Yoshida T, Ueno H, Okusaka T, Saijo N. Pharmacokinetics of gemcitabine in Japanese cancer patients: the impact of a cytidine deaminase polymorphism. *J Clin Oncol.*, 2007; 25(1): 32-42.
2. Ohe Y, Ohashi Y, Kubota K, Tamura T, Nakagawa K, Negoro S, Nishiwaki Y, Saijo N, Ariyoshi Y, Fukuoka M. Randomized phase III study of cisplatin plus irinotecan versus carboplatin plus paclitaxel, cisplatin plus gemcitabine, and cisplatin plus vinorelbine for advanced non-small-cell lung cancer: Four-Arm Cooperative Study in Japan. *Ann Oncol.*, 2007; 18(2): 317-323.
3. Yoh K, Niho S, Goto K, Ohmatsu H, Kubota K, Kakinuma R, Saijo N, Nishiwaki Y. Randomized trial of drip infusion

- versus bolus injection of vinorelbine for the control of local venous toxicity. *Lung Cancer*, 2007; 55(3): 337-341.
4. Saijo N. Clinical trials across continents: Drug development challenges regarding international collaborations. ASCO 2007 Educational Book, 2007; 177-179.
  5. Takeda M, Arao T, Yokote H, Komatsu T, Yanagihara K, Sasaki H, Yamada Y, Tamura T, Fukuoka K, Kimura H, Saijo N, Nishio K. AZD2171 shows potent antitumor activity against gastric cancer over-expressing fibroblast growth factor receptor 2/keratinocyte growth factor receptor. *Clin Cancer Res.*, 2007; 13(10): 3051-3057.
  6. Sekine I, Minna JD, Nishio K, Saijo N, Tamura T. Genes regulating the sensitivity of solid tumor cell lines to cytotoxic agents: a literature review. *Jpn J Clin Oncol.*, 2007; 37(5): 329-336. (Review)
  7. Minami H, Sai K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Suzuki K, Kaniwa N, Sawada J, Hamaguchi T, Yamamoto N, Shirao K, Yamada Y, Ohmatsu H, Kubota K, Yoshida T, Ohtsu A, Saijo N. Irinotecan pharmacokinetics/pharmacodynamics and UGT1A genetic polymorphisms in Japanese: roles of UGT1A1\*6 and \*28. *Pharmacogenet Genomics*, 2007; 17(7): 497-504.
  8. Saito Y, Katori N, Soyama A, Nakajima Y, Yoshitani T, Kim SR, Fukushima-Uesaka H, Kurose K, Kaniwa N, Ozawa S, Kamatani N, Komamura K, Kamakura S, Kitakaze M, Tomoike H, Sugai K, Minami N, Kimura H, Goto Y, Minami H, Yoshida T, Kunitoh H, Ohe, Y, Yamamoto N, Tamura T, Saijo N, Sawada J. CYP2C8 haplotype structures and their influence on pharmacokinetics of paclitaxel in a Japanese population. *Pharmacogenet Genomics*, 2007; 17(7): 461-467.
  9. Okamoto H, Watanabe K, Kunikane H, Yokoyama A, Kudoh S, Asakawa T, Shibata T, Kunitoh H, Tamura T, Saijo N. Randomized phase III trial of carboplatin plus etoposide vs split doses of cisplatin plus etoposide in elderly or poor-risk patients with extensive disease small-cell lung cancer: JCOG9702. *Br J Cancer*, 2007; 97(2): 162-169.
  10. Niho S, Fujii H, Murakami K, Nagase S, Yoh K, Goto K, Ohmatsu H, Kubota K, Sekiguchi R, Nawano S, Saijo N, Nishiwaki Y. Detection of unsuspected distant metastases and/or regional nodes by FDG-PET in LD-SCLC scan in apparent limited-disease small-cell lung cancer. *Lung Cancer*, 2007; 57(3): 328-333.
  11. Sakai K, Yokote H, Murakami-Murofushi K, Tamura T, Saijo N, Nishio K. Pertuzumab, a novel HER dimerization inhibitor, inhibits the growth of human lung cancer cells mediated by the HER3 signaling pathway. *Cancer Sci.*, 2007; 98(9): 1498-1503.
  12. Sekine I, Nokihara H, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Saijo N, Tamura T. Problems with registration-directed clinical trials for lung cancer in Japan. *Tohoku J Exp Med.*, 2007; 213(1): 17-23. (Review)
  13. Yoh K, Kubota K, Kakinuma R, Ohmatsu H, Goto K, Niho S, Saijo N, Nishiwaki Y. Phase II trial of carboplatin and paclitaxel in non-small cell lung cancer patients previously treated with chemotherapy. *Lung Cancer*, 2007; 58(1): 73-79.
  14. Kim SR, Sai K, Tanaka-Kagawa T, Jinno H, Ozawa S, Kaniwa N, Saito Y, Akasawa A, Matsumoto K, Saito H, Kamatani N, Shirao K, Yamamoto N, Yoshida T, Minami H, Ohtsu A, Saijo N, Sawada J. Haplotypes and a novel defective allele of CES2 found in a Japanese population. *Drug Metab Dispos.*, 2007; 35(10): 1865-1872.
  15. Kaniwa N, Sugiyama E, Kim S-R, Saito Y, Sawada J, Furuse J, Ishii H, Yoshida T, Ueno H, Okusaka T, Saijo N. Genotype-based methods for anticipating gemcitabine-related severe toxicities may lead to false-negative results. *J Clin Oncol.*, 2007; 25(30): 4855-4856. (Author reply)
  16. Maekawa K, Saeki M, Saito Y, Ozawa S, Kurose K, Kaniwa N, Kawamoto M, Kamatani N, Kato K, Hamaguchi T, Yamada Y, Shirao K, Shimada Y, Muto M, Doi T, Ohtsu A, Yoshida T, Matsumura Y, Saijo N, Sawada J. Genetic variations and haplotype structures of the DPYD gene encoding dihydropyrimidine dehydrogenase in

- Japanese and their ethnic differences. *J Hum Genet.*, 2007; 52(10): 804-819.
17. Yoshida K, Sugiura T, Takifuji N, Kawahara M, Matsui K, Kudoh S, Takada M, Fukuoka M, Ariyoshi Y, Fukuda H, Saijo N. Randomized phase II trial of three intrapleural therapy regimens for the management pleural effusion in previously untreated non-small cell lung cancer: JCOG 9515. *Lung Cancer*, 2007; 58(3): 362-368.
  18. Kim SR, Saito Y, Sai K, Kurose K, Maekawa K, Kaniwa N, Ozawa S, Kamatani N, Shirao K, Yamamoto N, Hamaguchi T, Kunitoh H, Ohe Y, Yamada Y, Tamura T, Yoshida T, Minami H, Ohtsu A, Saijo N, Sawada J. Genetic variations and frequencies of major haplotypes in SLC01B1 encoding the transporter OATP1B1 in Japanese subjects: SLC01B1\*17 is more prevalent than \*15. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2007; 22(6): 456-461.
  19. Ukaji M, Saito Y, Fukushima-Uesaka H, Maekawa K, Katori N, Kaniwa N, Yoshida T, Nokihara H, Sekine I, Kunitoh H, Ohe Y, Yamamoto N, Tamura T, Saijo N, Sawada J. Genetic variations of VDR/NR1H1 encoding vitamin D receptor in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet.*, 2007; 22(6): 462-467.
  20. Kunitoh H, Kato H, Tsuboi M, Shibata T, Asamura H, Ichinose Y, Katakami N, Nagai K, Mitsudomi T, Matsumura A, Nakagawa K, Tada H, Saijo N. Japan Clinical Oncology Group. Phase II trial of preoperative chemoradiotherapy followed by surgical resection in patients with superior sulcus non-small-cell lung cancers: report of Japan Clinical Oncology Group trial 9806. *J Clin Oncol.*, 2008; 26(4): 644-649.
  21. Sai K, Saito Y, Sakamoto H, Shirao K, Kurose K, Saeki M, Ozawa S, Kaniwa N, Hirohashi S, Saijo N, Sawada JI. Importance of *UDP-glucuronosyltransferase 1A1\*6* for irinotecan toxicities in Japanese cancer patients. *Cancer Lett.*, 2008; 261: 165-171.
  22. Sai K, Saito Y, Fukushima-Uesaka H, Kurose K, Kaniwa N, Kamatani N, Shirao K, Yamamoto N, Hamaguchi T, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Yamada Y, Minami H, Ohtsu A, Yoshida T, Saijo N, Sawada JI. Impact of CYP3A4 haplotypes on irinotecan pharmacokinetics in Japanese cancer patients. *Cancer Chemother Pharmacol.*, *in press*.
  23. Onishi H, Shirato H, Nagata Y, Hiraoka M, Fujino M, Gomi K, Niibe Y, Karasawa K, Hayakawa K, Takai Y, Kimura T, Takeda A, Ouchi A, Hareyama M, Kokubo M, Hara R, Itami J, Yamada K, Araki T. Hypofractionated stereotactic radiotherapy (HypoFXSRT) for stage I non-small cell lung cancer: updated results of 257 patients in a Japanese multi-institutional study. *J Thorac Oncol* 2007; 2(7 Suppl 3): 94-100.
  24. Tamaru J, Tokuhisa M, Nittsu N, Nakamura S, Ichinohasama R, Suzuki R, Mori H, Takagi T, Suzuki T, Itami J, Itoyama S, Mikata A. Hodgkin-like anaplastic large cell lymphoma (previously designated in the REAL classification) has same immunophenotypic features to classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphom* 2007; 48: 1127-1138.
  25. Ogawa K, Nakamura K, Hatano K, Uno T, Fuwa N, Itami J, Kojya S, Nakashima T, Shinhama A, Nakagawa T, Toita T, Sakai M, Kodaira T, Suzuki M, Ita H, Murayama S. Treatment and prognosis of squamous cell carcinoma of the external auditory canal and middle ear: a multi-institutional retrospective review of 87 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68: 1326-1334.
  26. Nishio T, Miyatake A, Inoue K, Katsuta S, Gomi-Miyagishi T, Kohno R, Kameoka S, Nakagawa K, Ogino T. Experimental verification of proton beam monitoring in a human body by use of activity image of positron-emitting nuclei generated by nuclear fragmentation reaction. *Radiol Phys Technol* 2008; 1: 44-54.
  27. Nishio T, Inaniwa T, Inoue K, Miyatake A, Nakagawa K, Yoda K, Ogino T. Experimental verification of the utility of positron emitter nuclei generated by photonuclear reactions for the X-ray beam monitoring in a phantom. *Radiat Med* 2007; 25: 516-522.
  28. Uno T, Sumi M, et al., Postoperative radiotherapy for non-small-cell lung cancer: results of the 1999-2001 patterns of care study nationwide process survey in Japan. *Lung Cancer*

- 2007; 56: 357-362.
29. Sekine I, Sumi M, et al., Phase I Study of Cisplatin Analogue Nedaplatin, Paclitaxel, and Thoracic Radiotherapy for Unresectable Stage III Non-Small Cell Lung Cancer. *Jpn J Clin Oncol*. 2007; 37: 175-180.
  30. Shimizu T, Sumi M, et al., Concurrent Chemoradiotherapy for Limited-disease Small Cell Lung Cancer in Elderly Patients Aged 75 Years or Older. *Jpn J Clin Oncol*. 2007; 37: 181-185.
  31. Watanabe S, Suzuki K, and Asamura H. Superior and basal segment lung cancers in the lower lobe have different lymph node metastatic pathways and prognosis. *Ann Thorac Surg* 2008; 85: 1026-31.
  32. Ishizumi T, Tateishi U, Watanabe S, and Matsuno Y. Mucoepidermoid carcinoma of the lung: High-resolution CT and histopathologic findings in five cases. *Lung Cancer*-2007, *in press*.
  33. Ishizumi T, Tateishi U, Watanabe S, Maeda T, and Arai Y. F-18 FDG PET/CT imaging of low-grade mucoepidermoid carcinoma of the bronchus. *Ann Nucl Med* 2007; 21: 299-302.
  34. Fukui T, Tsuta T, Furuta K, Watanabe S, Asamura H, Ohe Y, Maeshima AM, Shibata T, Masuda N, and Matsuno Y. Epidermal growth factor receptor mutation status and clinicopathological features of combined small cell carcinoma with adenocarcinoma of the lung. *Cancer Sci* 2007; 98: 1714-19.
  35. Kato Y, Tsuta K, Seki K, Maeshima AM, Watanabe S, Suzuki K, Asamura H, Tsuchiya R, and Matsuno Y. Immunohistochemical detection of GLUT-1 can discriminate between reactive mesothelium and malignant mesothelioma. *Mod Pathol* 2007; 20: 215-20.
  36. Hong J-S, Muragaki Y, Nakamura R, Hashizume M, Iseki H. A neurosurgical navigation system based on intraoperative tumour remnant estimation. *Journal of Robotic Surgery*, 2007; 1(1): 91-97.
  37. Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Iseki H. Intraoperative diffusion-weighted imaging for visualization of the pyramidal tracts, Part I: pre-clinical validation of the scanning protocol, *Minimally Invasive Neurosurgery* 2008; *in press*.
  38. Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Iseki H. Intraoperative Diffusion-weighted imaging for visualization of the pyramidal tracts. Part II: Clinical study of usefulness and efficacy, *Minimally Invasive Neurosurgery* 2008; *in press*.
  39. Nomori H, Kobayashi T, et al., Sentinel node navigation segmentectomy for clinical stage IA non-small cell lung cancer. *J. Thorac. Cardiovasc. Surg*. 2007; 133: 780-785.
  40. Nunobe S, Sano T. Symptom evaluation of long-term postoperative outcomes after pylorus-preserving gastrectomy for early gastric cancer. *Gastric Cancer* 2007; 10: 167-172.
  41. Kosaka Y, Sano T. Identification of the high-risk group for metastasis of gastric cancer cases by vascular endothelial growth factor receptor-I over-expression in peripheral blood. *Br J Cancer* 2007; 96: 1723-1728.
  42. Sano T. Tailoring treatments for curable gastric cancer. *Br J Surg*. 2007; 94: 263-264.
  43. Sasako M, Sano T. Surgical treatment of advanced gastric cancer: Japanese perspective. *Dig Surg* 2007; 24: 101-107.
  44. Tsujinaka T, Sano T. Influence of overweight on surgical complications for gastric cancer: results from a randomized control trial comparing D2 and extended para-aortic D3 lymphadenectomy (JCOG9501). *Ann Surg Oncol* 2007; 14: 355-361.
  45. Akasu T, Yamaguchi T, Fujimoto Y, Ishiguro S, Yamamoto S, Fujita S and Moriya Y. Abdominal sacral resection for posterior pelvic recurrence of recatal carcinoma: analyses of prognostic factors and recurrence patterns. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(1): 74-83.
  46. Uehara K, Shimoda T, Nakanishi Y, Taniguchi H, Akasu T, Fujita S, Yamamoto S and Moriya Y. Clinicopathological significance of fibrous tissue around the fixed recurrent rectal cancer in the pelvis. *Br J Surg* 2007; 94: 1530-1535.
  47. Uehara K, Nakanishi Y, Shimoda T,

- Taniguchi H, Akasu T and Moriya Y. Clinicopathological significance of microscopic abscess formation at the invasive margin of advanced low rectal cancer. *Br J Surg* 2007; 94: 239-243.
48. Uehara M, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Moriya Y and Morisue A. Isolated right external iliac lymph node recurrence from a primary cecum carcinoma: Report of a case. *Jpn J Clin Oncol* 2007; 37(3): 230-232.
  49. Nakajima T, Saito Y, Matsuda T, Hoshino T, Yamamoto S and Moriya Y, Saito D. Minute depressed-type submucosal invasive cancer; 5mm in diameter with intermediate lymph-node metastasis. Report of a Case. *Dis Colon Rectum* 2007; 677-681.
  50. Uehara K, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T and Moriya Y. Impact of Upward Lymph Node Dissection on Survival Rates in Advanced Lower Rectal Carcinoma. *Dig Surg* 2007; 24(5): 375-381.
  51. Ishibashi Y, Yamamoto S, Yamada Y, Fujita S, Akasu T and Moriya Y. Laparoscopic resection for malignant lymphoma of the ileum causing ileocecal intussusception -Case Report-. *Surg Laparosc Endosc Percutan Tech* 2007; 17(5): 444-446.
  52. Fujita S, Saito N, Yamada T, Takii Y, Kondo K, Ohue M, Ikeda E and Moriya Y. Randomized, Multicenter Trial of Antibiotic Prophylaxis in Elective Colorectal Surgery. *Archives of Surgery*, 2007; 142: 657-661.
  53. Fujita S, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y, Taniguchi H and Shimoda T. Quantification of CD10 mRNA in colorectal cancer and relationship between mRNA expression and liver metastasis, *Anticancer Research* 2007; 27: 3307-3312.
  54. Terauchi T, Tateishi U, Maeda T, Kanou D, Daisaki H, Moriya Y, Moriyama N and Kakizoe T. A case of colon cancer detected by carbon-11 choline positron emission tomography/ computed tomography: An initial report. *Jpn J Clin Oncol* 2007; 37(10): 797-800.
  55. Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Ishiguro S, Kobayashi Y and Moriya Y. Wound infection after elective laparoscopic surgery for colorectal carcinoma. *Surg Endosc* 2007; 21: 2248-2252.
  56. Fujita S, Nakanishi Y, Taniguchi H, Yamamoto S, Akasu T, Moriya Y and Shimoda T. Cancer invasion to auerbach's plexus is an important prognostic factor in patients with pT3-pT4 colorectal cancer. *Dis Colon Rectum* 2007; 50: 1860-1866.
  57. Nakagohri T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Tanizawa Y. Clinical Results of Extended Lymphadenectomy and Intraoperative Radiotherapy for Pancreatic Adenocarcinoma. *Hepato-Gastroenterology* 2007; 54(74): 564-569.
  58. Konishi M, Kinoshita T, et al., Pancreas-sparing duodenectomy for duodenal neoplasms including malignancies. *Hepatogastroenterology* 2007; 54(75): 753-757.
  59. Nakagohri T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, and Gotohda N. Surgical outcome of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Ann Surg Oncol* 2007; 14(11): 3174-3180.
  60. Mitsunaga S, Hasebe T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Nakagohri T, and Ochiai A. Detail Histologic Analysis of Nerve Plexus Invasion in Invasive Ductal Carcinoma of the Pancreas and Its Prognostic Impact. *Am J Surg Pathol* 2007; 11(31): 1636-1644.
  61. Kajiwara M, Fujii S, Takahashi S, Konishi M, Nakagohri T, Gotohda N, and Kinoshita T. Adenocarcinoma of the minor duodenal papilla with intraepithelial spread to the pancreatic duct. *Virchows Arch* 2007; 451:1075-1081.
  62. Kajiwara M, Gotohda N, Konishi M, Nakagohri T, Takahashi S, Kojima M, Hasebe, T, and Kinoshita T. Cystic endocrine tumor of the pancreas with an atypical multilocular appearance. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007; 14: 586-589.
  63. Shibui S, Narita Y, Nomura K. Pediatric brain tumors in Japan based on the data of the brain tumor registry of Japan. *Neuro-Oncology* 9(2) April 2007. Abstract No. 141. Pp 198.
  64. Murata S, Tajima H, Abe Y, Onozawa S, Uchiyama F, Hayashi H, Kimata R, Nomura K. Changes in pelvic and systemic

- platinum concentrations during negative-balance isolated pelvic perfusion: correlation between platinum concentration and method of administration in a pig model, *J Cancer Res Clin Oncol*, 2007; 133: 417-422.
65. Muchemwa F. C, Nakatsura T, Fukushima S, Nishimura Y, Kageshita T, and Ihn H. Differential Expression of Heat Shock Protein 105 in Melanoma and Melanocytic Naevi. *Melanoma Res*. 2008; *in press*.
  66. Motomura Y, Ikuta Y, Kuronuma T, Komori H, Ito M, Tsuchihara M, Tsunoda Y, Shirakawa H, Baba H, Nishimura Y, Kinoshita T, and Nakatsura T. HLA-A2 and -A24- restricted Glypican-3-derived peptide vaccine can induce Specific CTLs in preclinical study using mice. *Int. J. Oncol*. 2008; *in press*.
  67. Yokomine K, Nakatsura T, Senju S, Nakagata N, Minohara M, Kira JI, Motomura Y, Kubo T, Sasaki Y, and Nishimura Y. Regression of intestinal adenomas by vaccination with heat shock protein 105-pulsed bone marrow-derived dendritic cells in Apc<sup>Min/+</sup> mice. *Cancer Sci*. 2007; 98(12): 1930-1935.
  68. Fuji S, Kim SW, Mori S, Fukuda T, Kamiya S, Yamasaki S, Morita-Hoshi Y, Ohara-Waki F, Honda O, Kuwahara S, Tanosaki R, Heike Y, Tobinai K, and Takaue Y. Hyperglycemia during the neutropenic period is associated with a poor outcome in patients undergoing myeloablative allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation* 2007; 84: 814-820.
  69. Kusumoto S, Mori S, Nosaka K, Morita-Hoshi Y, Onishi Y, Kim SW, Watanabe T, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y, and Tobinai K. T-cell large granular lymphocyte leukemia of donor origin after cord blood transplantation. *Clin. Lymphoma Myeloma* 2007; 7: 475-479.
  70. Maruyama D, Fukuda T, Kato R, Yamasaki S, Usui E, Morita-Hoshi Y, Kim SW, Mori S, Heike Y, Makimoto A, Tajima K, Tanosaki R, Tobinai K, and Takaue Y. Comparable antileukemia/lymphoma effects in nonremission patients undergoing allogeneic hematopoietic cell transplantation with a conventional cytoreductive or reduced-intensity regimen. *Biol. Blood Marrow Transplant* 2007; 13: 932-941, 2007.
  71. Onishi Y, Mori S, Kusumoto S, Sugimoto K, Akahane D, Morita-Hoshi Y, Kim SW, Fukuda T, Heike Y, Tanosaki R, Tobinai K, and Takaue Y. Unrelated-donor bone marrow transplantation with a conditioning regimen including fludarabine, busulfan, and 4 Gy total body irradiation. *Int. J. Hematol*. 2007; 85: 256-263.
  72. Iizuka A, Ikarashi Y, Yoshida M, Heike Y, Takeda K, Quinn G, Wakasugi H, Kitagawa M, and Takaue Y. Interleukin (IL)-4 promotes T helper type 2-biased natural killer T (NKT) cell expansion, which is regulated by NKT cell-derived interferon-gamma and IL-4. *Immunology* 2007; 123: 100-107.
  73. Morita-Hoshi Y, Heike Y, Kawakami M, Sugita T, Miura O, Kim SW, Mori SI, Fukuda T, Tanosaki R, Tobinai K, and Takaue Y. Functional analysis of cytomegalovirus-specific T lymphocytes compared to tetramer assay in patients undergoing hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007; *in press*.
  74. Yamasaki S, Heike Y, Mori S, Fukuda T, Maruyama D, Kato R, Usui E, Koido K, Kim SW, Tanosaki R, Tobinai K, Teshima T, and Takaue Y. Infectious complications in chronic graft-versus-host disease: a retrospective study of 145 recipients of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced- and conventional-intensity conditioning regimens. *Transpl. Infect. Dis*. 2008; *in press*.
  75. Endo Y, Sakai R, Ouchi M, Onimatsu H, Hioki M, Kagawa S, Uno F, Watanabe Y, Urata Y, Tanaka N, and Fujiwara T. Virus-mediated oncolysis induces danger signal and stimulates cytotoxic-T-lymphocyte activity via proteasome activator upregulation. *Oncogene* 2007; *in press*.
  76. Hashimoto Y, Watanabe Y, Shirakiya Y, Uno F, Kagawa S, Kawamura H, Nagai K, Tanaka N, Kumon H, Urata Y, Fujiwara T. Establishment of Biological and Pharmacokinetic Assays of Telomerase-Specific Replication-Selective Adenovirus

- (TRAD). *Cancer Sci.* 2008; *in press.*
77. Fujiwara T, Urata Y, Tanaka N. Telomerase-specific oncolytic virotherapy for human cancer with the hTERT promoter. *Curr. Cancer Drug Targets* 2007; 7: 191-201.
78. Fujiwara T, Urata Y, Tanaka N. Diagnostic and therapeutic application of telomerase-specific oncolytic adenoviral agents. *Front. Biosci.* 2008; 13: 1881-1886.

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

伊丹純

- レーザースキャンを用いた 3 次元体表座標の迅速計測法に関して出願予定

小林寿光

- 小林寿光, 他. 磁気アンカー遠隔誘導システム. 特願 2008-018338, 2008 年 1 月 29 日.
- 小林寿光, 他. 内視鏡用処置具装置. 特願 2008-035893, 2008 年 2 月 18 日.
- 小林寿光, 他. 内視鏡用補助器具. 特願 2008-025894, 2008 年 2 月 18 日.

荻野 尚

- 特願 2007-009524 : 荷電粒子線照射装置
- 特願 2007-009541 : 荷電粒子線照射装置
- 特願 2007-009544 : 荷電粒子線照射装置、及び荷電粒子線照射方法

2. 実用新案登録

なし

3. その他

伊丹純

- 体表座標計測装置は薬事申請中

3次元体表座標を用いた高精度放射線治療システムの開発

分担研究者 伊丹 純 国立国際医療センター医長

研究要旨

放射線治療における体位再現性の改善と高精度化を目指して体表計測装置および体位再現支援装置を開発した。体表計測にはレーザースキャン法を用い、計測を0.2秒まで短縮化することに成功した。体位再現支援装置においては、治療計画CTから抽出した体表座標もレーザースキャンにより得られた体表座標も基準として使用可能である。基準座標とのずれの定量的評価は1秒以内に表示される。ファントム実験でのXYZ方向のずれは2mm以内であった。臨床試用では、6軸偏移の算出に問題は残るものの、通常放射線治療時の3点による体位再現法では上肢や頸部のずれが大きいことが示された。今後更に6軸偏移の表示改善を行う。

A. 研究目的

放射線治療においては体位再現性の確保が絶対に必要である。現状では、透視やCTなどを用いて体内解剖の再現性を確保しているが、そのような方法には余計な被曝を伴う。体表座標の再現は腫瘍座標再現の必要条件であり、本研究においては被曝なく体表3次元座標を獲得し、その治療計画時と放射線治療時の偏移を定量的に表示するシステムを開発する。当装置の開発により、高精度な放射線治療が容易となり、放射線治療器あたりの患者数増加も可能であると思われる。

B. 研究方法

すでにレーザースキャンを用いた方法で体表座標を採取する体表計測装置を開発した。更に、基準体表座標と計測体表座標の定量的ずれを表示する体位再現支援装置も開発した。体表計測装置および体位再現支援装置のハードおよびソフトの改良を行う。改良の方向としては、計測装置においてはスキャン時間の短縮化を図る。体位再現支援装置においては、位置ずれ表示までの時間の短縮化を図るとともに、ずれのベクトル表示方法を開発する。更に、ずれの6軸での偏移への換算および表示法を確立する。校正用器具の開発も行う。また、ファントム実験を行いずれ表示の精度を検討し、更に実際の臨床試用を行い、体表座標再現がアイソセンター再現に有用であることを確認する。

（倫理面への配慮）

当システムの患者への試用は国立国際医療セン

ター倫理委員会の承認済みであり、患者から書式によるinformed consentを得て当システムを試用する。

C. 研究結果

当年度の研究開発により、スキャン時間を0.1秒にまで高速化することが可能となった。当初は20秒近くを要したことからすると絶大なる進歩である。また、体表座標計測装置重量も5kgまで軽量化できた。体位再現支援装置にあっては、ずれ表示までの時間を1秒以内に収めることが可能となった。また、ずれの絶対値はカラーディスプレイされるが、ずれ方向の表示も工夫して同時表示されるように改良した。またROIを自由に設定でき、その範囲における6軸偏移量が計算可能とした。ファントム実験の結果は、XYZ方向のずれ表示で2mm程度の誤差が生じることが明らかとなり現在改良中である。校正用器具の開発により、簡便に基準面および基準点の設定が可能となった。実際の患者に当システムを試用したが、上半身照射の場合には皮膚の3点マーカが合致しても特に上肢および頸部の位置のずれが大きいことが示された。定位照射症例で当システムを使用したxyz軸ずれ量と、CTを使用して骨座標でみたxyz軸ずれ量の相関を検討したが、明らかな相関が見られなかった。

D. 考察

体各部のずれ表示の方法はすでに確立した。それに対してそのずれを6軸偏移として表現する方法に関しては問題を残している。患者の体のご



く一部、例えば肩を挙上しただけでも6軸偏移として表現されるが、実は患者の肩だけしか動いていない。当システムを用いて算出された6軸ずれ量をそのまま放射線治療寝台のずれ補正として用いることは現状では考えられない。臨床試用でもCTによるずれ量と当システムを用いたずれ量に大きな相違がでたのは、体位再現支援装置中のすべての計測点の平均のxyzずれ量を計算したためと思われ、ROIを適切に設定すれば、CTでのずれ量との合致が改善すると思われた。今後ROIの自動設定機能なども開発して改善に努めることが必要である。

しかし、当システムにより、体幹部各部の動きが定量的に表示可能となったことにより放射線治療時の位置決めがより定量的に可能となった。更に当システムでは被曝を全く伴わないことから、連続で使用することが可能であり、いわゆる interfractional なずれとともに、intrafractional (照射中) なずれの定量的把握も可能となることは大きな進歩である。

#### E. 結論

放射線治療計画時と放射線治療時の体表座標のずれを定量的に表示するシステムを開発した。ずれは最終的に6軸偏移として表示されるが、6軸偏移の計算法に関しては大きな改善余地があることが示された。

#### F. 研究発表

Onishi H, Shirato H, Nagata Y, Hiraoka M, Fujino M, Gomi K, Niibe Y, Karasawa K, Hayakawa K, Takai Y, Kimura T, Takeda A, Ouchi A, Hareyama M, Kokubo M, Hara R, Itami J, Yamada K, Araki T. Hypofractionated stereotactic radiotherapy (HypoFXSRT) for stage I non-small cell lung cancer: updated results of 257 patients in a Japanese multi-institutional study. *J Thorac Oncol* 2007; 2(7 Suppl 3):94-100.

Tamaru J, Tokuhisa M, Nittsu N, Nakamura S, Ichinohasama R, Suzuki R, Mori H, Takagi T, Suzuki T, Itami J, Itoyama S, Mikata A. Hodgkin-like anaplastic large cell lymphoma (previously designated in the REAL classification) has same immunophenotypic features to classical Hodgkin lymphoma. *Leuk Lymphom* 2007; 48: 1127-1138.

Ogawa K, Nakamura K, Hatano K, Uno T, Fuwa N, Itami J, Kojya S, Nakashima T, Shinhamma A, Nakagawa T, Toita T, Sakai M, Kodaira T, Suzuki M, Ita H, Murayama S. Treatment and prognosis of squamous cell

carcinoma of the external auditory canal and middle ear: a multi-institutional retrospective review of 87 patients. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2007; 68: 1326-1334.

#### G. 知的財産等の出願・登録状況 (予定を含む。)

##### 1. 特許取得

レーザースキャンを用いた3次元体表座標の迅速計測法に関して特許出願予定

##### 2. 実用新案登録

##### 3. その他

体表座標計測装置は薬事申請中である。

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）  
分担研究報告書

陽子線治療における革新的新技術の開発

分担研究者 荻野 尚 国立がんセンター東病院・臨床開発センター・粒子線医学開発部・部長

研究要旨

陽子線は高い線量集中性を示す物理特性を持っているが、現在の陽子線治療の方法では、この特性を十分に活かしきれていない。この特性を十分に活かした陽子線治療の実現には、腫瘍への確に照射するための技術・実際に照射された位置を確認するための技術・照射方法を正確にシミュレートするための技術が必須である。これらの技術を統合したシステムの構築により、治療室内において、治療直前または治療中の患者の状態に合わせた照射条件での適応治療：Dose volume adapted proton therapy (DAPT)を実現する。それによって、最先端技術を駆使した高精度の陽子線治療を患者へ提供することが出来る。

A：研究目的

最先端技術の研究開発を行い、DAPTを実現するためのシステムを構築し、患者へ高精度の陽子線治療を提供することが目的である。本年度は、患者体内における陽子線の照射された位置の確認システムの構築及びその実用化を目的とした。

B：研究方法

陽子線照射による患者体内原子核の核破砕反応により生成されるポジトロン放出核を情報因子として、崩壊後に放出される消滅 $\gamma$ 線対を同時計測することで、患者体内での陽子線照射領域を可視化し、リアルタイムで観測する。その為に、陽子線回転ガントリーに開発した beam on-line PET system (BOLPs)を設置した。また、専用の解析機能を搭載した viewer システムの構築を実施した。BOLPs を利用し、生成ポジトロン核の強度・分布の可視化シミュレーションするための核破砕反応メカニズムの解明の基礎的研究、そして、BOLPs の臨床利用を開始した。

核破砕反応メカニズムの解明においては、ポリエチレン、水、塩化カルシウムをターゲットにして、陽子線のエネルギーに異存した、 $^{12}\text{C}(p,X)^{11}\text{C}$ 、 $^{10}\text{C}$ 、 $^{16}\text{O}(p,X)^{15}\text{O}$ 、 $^{14}\text{O}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{10}\text{C}$ 、 $^{40}\text{Ca}(p,X)^{38}\text{K}$ 、... の反応

断面積の実験を実施した。臨床利用においては、陽子線治療実施患者で頭頸部、前立腺、肝臓、肺及び脳の18症例について、日々の治療での陽子線照射領域を観測した。BOLPs における計測は、ビーム照射中+200秒間で実施した。初回の治療で得られた可視化画像をリファレンスとして、それ以降の日々の陽子線治療で得られる可視化画像との時系列変化を追跡観測した。

C：研究結果

核破砕反応メカニズムの解明のため反応断面積について、例として  $^{16}\text{O}(p,X)^{15}\text{O}$ 、 $^{14}\text{O}$ 、 $^{13}\text{N}$ 、 $^{11}\text{C}$ 、 $^{10}\text{C}$  反応の結果を Fig.1 に示す。取得した反応断面積の実

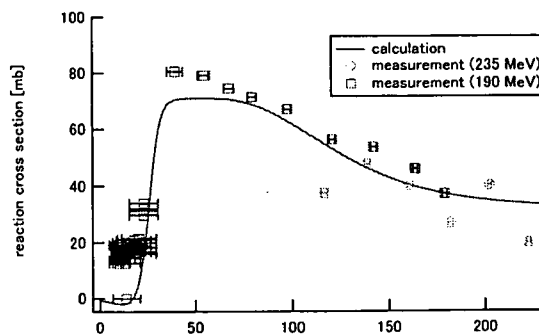


Fig.1: Calculation and measurement data of reaction cross section in  $^{16}\text{O}$  nuclei.

験データはまだ統計的にも少ないが、予測される

計算値の近い傾向を示した。

線治療を提供出来るものと期待できる。

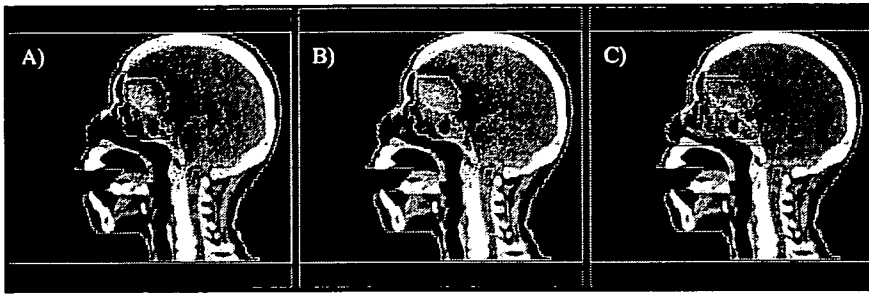


Fig.2 : PET image of reference (A) and every treatment (B), proton dose distribution (C) in head and neck cancer.

治療部位毎の陽子線照射領域の可視化画像を得ることが出来た (Fig.2 参照)。頭頸部 (副鼻腔腫瘍) の陽子線治療においては、治療途中での腫瘍の変化に対応した照射領域の可視化画像の変化を観測することが出来た。測定時間の経過における消滅 $\gamma$ 線検出数の減少傾向から治療部位毎の半減期特性の算出、則ち、陽子線照射によって治療部位毎にどのような種類のポジトロン放出核が生成されたかの情報を得ることが出来た (Fig.3 参照)。

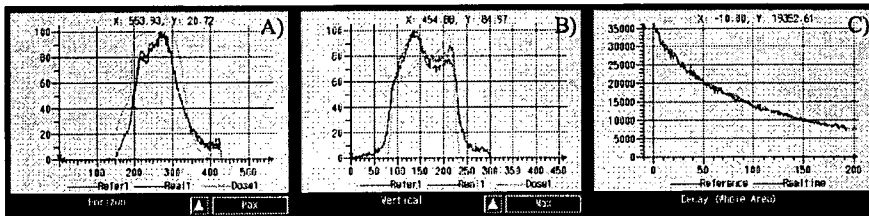


Fig.3 : Activity and dose distribution on horizontal (A) and vertical axis (B), decay of activity (C). The red line is PET image data of reference, the blue line every treatment, and the green line the dose.

#### D : 考察

反応断面積に関する基礎研究においては、まだ、測定データの統計精度が悪いが、今後、測定データの蓄積を継続することによって精度は向上するはずである。臨床利用から得られた照射領域の可視化データについては、更に可視化データの変化の解析を進捗させることで、陽子線治療期間中における腫瘍の縮小など患者状態の変化を定量的に算出及び評価が可能となる。計画された領域に対して的確に陽子線が照射されていることを担保することで、患者ごとの時系列的な状態の変化に対応した高精度の陽子

#### E : 結論

患者体内における陽子線の照射された位置の確認システムの構築及びその実用化を実現し、臨床利用を開始した。患者体内におけるリアルタイムでの陽子線照射領域の可視化を実現出来た。可視化シミュレーションの主要部である

核破碎反応断面積の算出を行った。

#### F : 研究発表

##### 1. 論文発表

(ア) Nishio T, Miyatake A, Inoue K, Katsuta S, Gomi-Miyagishi T, Kohno R, Kameoka S, Nakagawa K, Ogino T: Experimental verification of proton beam monitoring in a

human body by use of activity image of positron-emitting nuclei generated by nuclear fragmentation reaction. Radiol Phys Technol 2008; 1:44-54.

(イ) Nishio T, Inaniwa T, Inoue K, Miyatake A,

Nakagawa K, Yoda K, Ogino T: Experimental verification of the utility of positron emitter nuclei generated by photonuclear reactions for the X-ray beam monitoring in a phantom. Radiat Med 2007; 25: 516-522.

##### 2. 学会発表

(ア) Nishio T, Ogino T: Functional imaging for treatment response. The 21<sup>st</sup> International Symposium, Modern Radiation Oncology: Innovative Technologies and Translational

Research, February 19-21, 2008.

G : 知的所有権の取得状況

1. 特許取得

(ア) 特願 2007-009524 : 荷電粒子線照射装置

(イ) 特願 2007-009541 : 荷電粒子線照射装置

(ウ) 特願 2007-009544 : 荷電粒子線照射装置、  
及び荷電粒子線照射方法

2. 実用新案登録

(ア) なし

3. その他

(ア) なし