

200924023A

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

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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西條 長宏

平成22（2010）年 4月

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

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21年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 西條 長宏

平成22（2010）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. 科学的・行政的背景をふまえた、細胞免疫療法の臨床開発 -----	20
	平家 勇司	
	2. 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 -----	22
	藤原 俊義	
	3. 科学的根拠に基づくがんの免疫療法の開発 -----	24
	中面 哲也	
	4. WT1 ペプチド癌ワクチンの開発に関する研究 -----	26
	杉山 治夫	
	5. 高精度陽子線治療のための新技術開発 -----	28
	荻野 尚	
	6. precision-guided surgery(PGS:精密誘導手術)を誘導する技術の開発に関する研究 -----	31
	伊関 洋	
	7. 体幹部定位照射における新しい評価・照射技術の開発に関する研究 -----	33
	永田 靖	
	8. 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 -----	35
	角 美奈子	
	9. 切除不能肺悪性腫瘍に対するラジオ波凝固治療に関する研究 -----	39
	渡邊 俊一	
	10. 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 -----	41
	藤元 博行	
	11. 局所再発癌に対する合理的な手術法の開発 -----	43
	森谷 亘皓	
	12. 死亡率ゼロを目指す膵頭十二指腸切除術の術中、術後管理に関する研究 -----	46
	木下 平	
	13. 早期胃癌合理的縮小手術のための胃リンパ流の検出に関する研究 -----	48
	佐野 武	
III.	研究成果の刊行に関する一覧表 -----	49
IV.	研究成果の刊行物・別刷 -----	63

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

研究代表者 西條 長宏 近畿大学医学部 特任教授

研究要旨 GalCer+IL2刺激単核球を用いた受動免疫療法のプロトコルを作成した。High Affinity Fc・RIIIa遺伝子をクローニングし、その発現レトロウイルスベクターを作成、ヒトのリンパ球へ導入し、NK, ADCC活性の上昇を証明した。テロメライシンと放射線の併用によりヌードマウス移植腫瘍に対し、強力なin VIVO抗腫瘍効果を認めた。頭頸部及び胸部悪性腫瘍に対するテロメライシンを用いた放射線併用ウイルス療法の第I/II相臨床試験プロトコルを作成し、IRBで審議中である。進行肝がん患者を対象としたGPC3ワクチンの第1相試験で30mg3回投与例に腫瘍縮小・消失を認め、第2相試験開始の予定である。肝がん根治治療後の再発予防効果を検証する第2相試験を開始した。ペプチドワクチン治療後の未梢リンパ球よりHLA-A2、A24拘束性のペプチド特異的CTLクローンを樹立した。再発グリオブラストーマ及び、進行膵がんに対しWT1ペプチド免疫療法の各々第II相試験及び第I相試験（ゲムシタピンとの併用）を行いグリオブラストーマでは2例のPRを認めた。BOLPsを用い陽子線の線量分布とactivity分布の相関を検証するため、Target Elemental Activity Pencil Beam Algorithm (TEA-PBA)を考案した。又、照射方法を正確にシミュレートするシステム計算結果と実測結果の比較検証を実施した。術野内での術中蛍光診断システムの構築及び光線力学治療の確立を目指し摘出標本での蛍光組織診断と病理組織診断との比較研究を行うと共にレザフィリンと664nmのPDレーザを使用した悪性脳腫瘍の光線力学診断・治療に関する医師主導治験を開始した。切除不能肺悪性腫瘍に対するラジオ波熱凝固療法の臨床試験を57例（63病変）に対し行った。気胸でドレナージを要した症例が14例（22%）、再発例は6例であった。前立腺尖部からの出血を容易に止血し、尿道離断を確実にするソフト凝固法では止血が完了したときに自動的に出力が停止するバイポーラーオートストップモードを使用することが最も確実と示された。3.0Tesla MRIで前立腺周囲静脈叢を最も良好に描出しうる条件を確立した。直腸がん再発例に対する仙骨合併骨盤内臓全摘術を85例行い、①適応基準、②静脈性出血減少を図る手術手順、③術後重篤合併症防止法などを確立した。5年生存率はR0切除群57例では49%、R1, 2群11例では0%であった。膵頭十二指腸切除術後、閉鎖式持続吸引ドレナージを用いることによって膵液瘻ドレーン交換の要否、術後在院日数、ドレーン留置期間、手術死亡などの頻度は開放式ドレナージに比較し有意に減少した。

研究分担者 西條 長宏
近畿大学医学部 臨床腫瘍学
特任教授
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
杉山 治夫
大阪大学
教授
藤原 俊義
岡山大学病院

遺伝子・細胞治療センター
准教授（副センター長）
平家 勇司
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
肺科医長
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
永田 靖
広島大学大学院
教授
伊関 洋
東京女子医科大学先端生命医科
学研究所
教授
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
副院長
藤元 博行
国立がんセンター中央病院
医長
佐野 武
癌研究会有明病院
担当部長

A. 研究目的

GMP レベル下で細胞製剤製造に最適の原材料・培養用具を開発してきた。細胞製剤製造のモデルが具体化し細胞療法の臨床試験を開始する。

わが国で開発したペプチドワクチンを用いた治療の臨床試験を既に開始しているが、その第 I/II 相試験を行う。また治療過程における免疫モニタリングの方法を確立する。

放射線治療と本邦で開発したウイルス療法の相乗効果のメカニズムを検討する。DNA repair 阻害がその一因と証明されたため、投与タイミングを考慮し臨床での治療効果増強

を目指した併用療法を具体化する。

陽子線照射による体内中での核反応で生成されるポジトロン放出核を情報の因子として照射領域をリアルタイムで観測できるようにする。これにより高精度陽子線治療を行い腫瘍のみに対するピンポイント照射が可能になる。BOLPs を利用した DGPT は本研究以外では行われておらず既に臨床応用が開始されているのでその意義を評価する。

腫瘍組織のみを破壊可能な PD レーザの照射条件を決定する。これにより悪性脳腫瘍に対する精密な治療が可能となり成績の向上をもたらすと思われる。臨床試験によりその意義を評価する。

種々の時間相の線量分布を加算した四次元放射線治療計画を行う。また、定位放射線照射に連動した画像誘導放射線治療システムを確立する。これらの独創的研究により高精度放射線治療による治療成績の向上を検討する。

手術適応のない早期肺癌患者に対しラジオ波凝固療法の意義を検討する。既に安全性を検討したが他の治療方の適応のない患者に対する新しい治療法として意義がある。治療対象症例の予後を分析する。

膵がん・骨盤壁浸潤がんに対する手術適応の拡大を目指し合理的手術法を開発する。良好な結果がえられているが術後遠隔転移（肺）の制御が補助化学療法の追加によって可能となれば更に高い 5 年生存率をもたらさう。また、胃がん、前立腺がんに対する適正な手術方法の確立は本邦特有の研究である。

B. 研究方法

細胞療法の具体化の為独自に開発した培養システムを用いて試験製造した、・GalCer+IL2 刺激単核球製剤の物性試験、非臨床安全性試験結果を完結する。その際、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に

関する指針」に沿ってデータをまとめ、試験薬概要書を作製する。ADCC 活性が高い健常ボランティアから Fc・RIIIa をクローニングし、High Affinity type であることを sequence にて確認する。全領域の配列を確認したのち、レトロウイルスベクターを作製し、培養細胞株並びに健常者単核球に遺伝子導入し、その発現を FACS にて確認する。

テロメライシンの *in vivo* 効果をみるためルシフェラーゼ遺伝子発現ヒト食道扁平上皮癌細胞 TE8 (2×10^6 個/マウス) を、マトリゲルに混じて開腹下に 6 週齢 BALB/c ノードマウスの食道胃接合部の食道壁に移植し、同所性ヒト食道癌モデルを作成する。TE8 細胞移植後 3 週間から、2 Gy の放射線照射と開腹による 1×10^8 plaque forming units (PFU) のテロメライシンの腫瘍内投与を 2 日おきに 3 回施行する。経時的 (3~4 日おき) に腫瘍増殖をモニターするために、150 mg/kg の基質ルシフェリンを腹腔内投与し、10~30 分後に麻酔下に IVIS 非侵襲的イメージングシステムを用いて画像を記録して抗腫瘍効果を検討する。臨床研究プロトコル「頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルス Telomelysin を用いた放射線併用ウイルス療法第 I/II 相臨床研究」を作成し、岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に実施計画書を作成承認後臨床試験を開始する。

進行肝細胞がん患者を対象にした GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験を完了し、次相の推奨投与量を決定し、引き続き第 II 相試験を計画して有効性を検証する。肝細胞がん根治的治療後の再発予防効果を検証する臨床第 II 相試験も計画する。GPC3 ペプチドワクチンの臨床試験の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて *in vitro* にて誘導した GPC3 ペプチド特異的 CTL をシングルセルソーティングし、HLA-A2, A24 それぞれの CTL 株、さらにはクローンを樹立し、機能解析をする。

回転ガントリーポートに設置した beam on-line PET system (BOLPs-RGp) を利用し、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 activity 分布測定から照射領域を可視化すると共に患者体内の照射領域で生成されるポジトロン放出核による activity 分布の計算を実施する。Activity 分布の計算を実施する方法としては、モンテカルロ法以外の実臨床で要求される activity 分布の計算精度及び計算時間を満足する新たな activity 分布計算アルゴリズムの考案及び開発を行う。陽子線治療においては、ペンシルビーム線量分布計算法を高精度化する線量計算アルゴリズムを考案及び開発を行う。

悪性脳腫瘍の 5 年生存率を言語や運動機能を温存しながら向上させるためには、5-ALA の術中蛍光組織診断の可能性について、昨年度の蛍光強度分布と組織診断の基礎研究に続き、蛍光計測と病理診断の比較するための計測方法を確立し、標本にて比較する。レザフィリンと PD レーザによる光線力学治療を医師主導治験として実施する。手術方法の手順は、手術摘出予定時間の約 24 時間前に、レザフィリン静注後、PD レーザ 664nm による光線力学診断で、残存腫瘍を表面から切除する、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。

新規に導入した放射線治療装置システムを用いて、四次元 CT および呼吸同期照射の有用性について評価する。四次元 CT 画像の作成は新規導入した多列 CT 撮像装置と呼吸移動監視装置を用いて、呼吸による胸郭運動のデータと、複数断面の CT 画像を取得する。取得したデータを画像処理し、呼吸運動と一致した CT 画像を作成する。

呼吸同期放射線治療計画では、一回の呼吸を 10 位相に分割し、終末呼気での三位相を照射の呼吸位相とする。対応する呼吸位相での CT 画像を用いて、標的 (腫瘍) を描出し、それを肉眼的腫瘍

容積として放射線治療計画を作成する。検討項目は、①肺癌症例における安静呼吸下での4秒スキャン CT 画像、4次元 CT による MIP(maximum intensity projection image)像の比較、②肺癌症例の放射線治療計画における呼吸同期照射と安静呼吸下照射の内的標的容積および肺 V20 の比較、とする。

肺腫瘍のラジオ波熱凝固療法を手術不能例に対し行う局所麻酔の後、CT 透視下に病変の位置を同定、穿刺針を挿入する。ジェネレーターの出力を10Wより開始し、毎分5Wずつ上昇させる。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。

局所前立腺癌に対する前立腺全摘における前立腺周囲の静脈叢 dorsal vein complex(DVC)評価のため三次元グラディエントエコー法によるGd造影脂肪抑制 T1 強調画像を用いて、volume rendering法による再構成を行い、三次元画像を作製。スライス厚を0.5mm, 0.8mm, 1.0mmの3種類に設定し、各々の三次元画像を比較検討する。一方DVC処理において、電圧を制御しスパークの発生を押さえることにより血管壁を収縮させることにより凝固させるソフト凝固という新しい技術を搭載した電気メス止血操作に革新的な技術改良を検討する。

1985年～2009年の期間、外科治療をうけた局所再発直腸癌194例につき、手術時間、出血量、合併症から見た手術侵襲、摘除標本の病理学的検討、予後因子、仙骨切断レベルとの遠隔成績に及ぼす関係などを検討する。手術術式の内訳は、試験開

腹または人工肛門造設が15例、再発巣切除・低位前方切除・腹会陰式直腸切断術(以下、Limited surgery; LS)60例、骨盤内臓全摘(以下、TPE)42例、骨盤内臓全摘・仙骨合併切除(以下、TPES)79例である。

術後1, 3, 5, 7PODにドレーン排液の培養とアミラーゼ値の測定を行ってきた。臍頭十二指腸切除例、65例に対し、ISGPF基準のGradeB以上を臍液瘻とし、このデータをもとに安全なドレーン抜去の要件について検討する。

(倫理面への配慮)

動物実験においては必要最少動物数を用いるとともに適正な飼育を行う。ト殺は苦痛を伴わないよう配慮するとともに大きな腫瘍を担がん状態で長期飼育し苦痛を与えるような事はしない。臨床試験はヘルシンキ宣言に基づく臨床研究の倫理指針に準じ各施設の臨床試験審査委員会の許可の下に行う。また独立効果安全性評価委員により研究の続行、停止に関するアドバイスを受ける。個人情報保護には十分注意する。

C. 研究結果

全細胞及びNK・NKT細胞の増殖効率、培養がん細胞株に対する殺細胞効果並びにサイトカイン産生能を指標にして、 α GalCer+IL2刺激単核球培養用に最適な培養液と培養バッグを選択し、それを組み合わせ、臨床使用可能な培養システムを構築した。そのシステムを用い、安定した培養がおこなえることを確認すると共に、培養細胞製剤の物性試験、非臨床安全性試験を行った。その試験結果を、関連指針「ヒト(自己)由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」の記載項目と照らし合わせ、治療用細胞製剤製造における必須項目を網羅していることを確認した。その結果に基づいて、治療用細胞製剤の試験薬概要書を作製すると共に、進行腎細胞がんに対する細胞免疫療法の臨床研究計画書を作成し、倫理審査委員会に提出した。現在、審

議中である。高い ADCC 活性をもつ健常ボランティア末梢血単核球から、RT-PCR 法を用いて Fc γ RIIIa 遺伝子をクローニングした。シーケンスにて、HAFc γ RIIIa 遺伝子であることを確認した後、発現レトロウイルスベクターを構築した。このレトロウイルスベクターを用いて、培養細胞並びに健常ボランティア単核球に HAFc γ RIIIa 遺伝子の導入並びに遺伝子発現が可能な事を確認した。

ヌードマウス同所性ヒト食道扁平上皮癌モデルに対し局所放射線治療と照射直後にテロメライシン (Telomelysin, OBP-301) の開腹下腫瘍内投与を 2 日おきに 3 回繰返したところ、IVIS 非侵襲的イメージングシステムでの評価ではそれぞれの単独治療でも腫瘍縮小効果はみられたが、併用によって有意に顕著な抗腫瘍効果が認められた。昨年度までの本研究で明らかにした放射線照射とテロメライシンの相乗効果の分子機構 (DNA 修復阻害)、および前臨床研究としての *in vivo* における相乗的な抗腫瘍効果に基づき、臨床研究プロトコル「頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルス Telomelysin を用いた放射線併用ウイルス療法第 I / II 相臨床研究」を作成した。平成 21 年 3 月 25 日、岡山大学病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会に申請し、第 1 回審査委員会が 4 月 6 日に、第 2 回が 8 月 3 日に開催され、科学的・倫理的妥当性についての審議が進んできた。

進行肝細胞がん患者を対象に実施してきた GPC3 ペプチドワクチンの臨床試験臨床第 I 相試験を完了した。安全性と免疫学的有効性が証明され、30mg、3 回投与の 1 例に腫瘍の縮小や消失などの著明な臨床効果が出現するなどの臨床効果も見出された。引き続き第 II 相試験を計画して有効性を検証する。根治的治療後の再発予防効果を検証する臨床第 II 相試験の推奨投与量は 3.0mg に決定して、国立がんセンター倫理審査委員会に申請し承認されてスタートし、順調に登録が進ん

でいる。ペプチドワクチン後の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて、HLA-A2, A24 拘束性のペプチド特異的 CTL クローンを樹立した。これらの CTL クローンは GPC3 ペプチド特異的な反応を示した。HLA-A2 の CTL クローンはいずれも GPC3 ペプチドに対して高い親和力を持っており、GPC3 発現がん細胞株に対して HLA-class I 拘束性に細胞傷害性を示した。

患者体内で陽子線照射された領域を確認するシミュレーションシステムの確立のため activity 分布をペンシルビーム化することで、高速・高精度で患者体内での activity 分布計算を実施出来る、Target Elemental Activity Pencil Beam Algorithm (TEA-PBA) を考案しアルゴリズムの基礎開発を実施した。主要素、水素、炭素、窒素、酸素及びカルシウムのうち陽子線による原子核破砕反応で重要な炭素核を多く含むポリエチレン、酸素核を含む水、そしてカルシウム核を含む酸化カルシウムを陽子線照射のターゲットとし、BOLPs-RGp による深部方向の activity 分布の実測データを用いて、物質中での陽子線のクーロン多重散乱効果を考慮することで activity 分布のペンシルビーム化を実施した。陽子線線量分布計算で利用しているペンシルビームアルゴリズムの線量計算精度を向上させるために、ガウス形状を持つ陽子線ペンシルビームをデルタ関数で細分割する手法、Delta-functional Multi Segmented Pencil Beam Algorithm (DMS-PBA) を考案した。不均質物質における物質の境界領域において、DMS-PBA においては高密度部分とそうでない部分を通過する陽子線がその部分で損失するエネルギーの差を計算することができ、ブラッグピークが 2 本となる現象を正しく再現できた。

5-ALA (5 アミノレブリン酸) が腫瘍細胞に取り込まれ代謝され Pp IX になり、405nm のレーザー光により 630nm の赤い励起光を発する spectrogram の情報 (蛍光強度分布) と病理組織

学的診断情報とを比較検討を実施した。摘出された脳組織を容器に入れ、まず蛍光計測を実施する。組織標本と蛍光計測との位置合わせを工夫し、組織の歪み以外には問題となる変形や収縮が起こらない新鮮凍結切片法によって標本を作製し、蛍光計測と病理診断の比較するための計測方法を確立した。

新規に導入した放射線治療装置システムを用いた四次元 CT および呼吸同期照射の有用性についての評価では、肺癌 5 症例における安静呼吸下での 4 秒スキャン CT 画像、4 次元 CT による MIP 像の比較を行った。5 症例すべてにおいて、これまでの安静呼吸下照射で使用していた 4 秒スキャン CT 画像と比較して、四次元 CT における MIP 像での腫瘍容積が大きくなった。このことから四次元 CT を用いた MIP 像では、4 秒スキャンでは得られない真の ITV が取得可能であると考えた。また、四次元 CT を用いた呼吸同期照射と安静呼吸下照射の治療計画を肺癌 3 症例で行った結果からは、呼吸同期照射において内的標的容積の減少に伴う治療体積の減少と肺合併症の指標となる肺 V20 の減少が得られた。この呼吸同期照射により、体幹部定位照射の進行期症例や呼吸機能不良症例への適応拡大、肺癌以外の疾患への適応拡大が期待できる。

ラジオ波熱凝固療法を 2009.12 月までに 71 病変に対して施行した。うち 2009 年 1 月から 12 月までに施行されたのは 22 例である。原発性肺癌に対するものが 61% (43/71) を占める。硬膜外麻酔を併用することにより手技中の疼痛コントロールはおおむね良好である。気胸でドレナージを要した症例が 15 例 (21%) であったが、7 日以上以上の入院を要した症例は 2 例 (2.8%) のみである。これまでに重篤な合併症は生じておらず、また当院における本治療の死亡率は 0 であり、本治療法は患者の QOL を損なうことは少ないと思われる。長期的評価としてはこれまでに再発 (再燃) が 9 例に見られ、再 RFA を施行したものが 4

例、手術による摘出を行ったのが 1 例、陽子線治療を行ったのが 1 例であった。手術の 1 例は右肺全摘を行っている。3 例は高齢などにより経過観察中である。死亡例 (4 例) はいずれも原病死であり、すべて転移性肺腫瘍であった。

前立腺がん 42 例において DVC の描出画像を検討した。従来サントリーニ静脈叢を構成していると考えられてきた dorsal vein of penis と DVC の直接的な交通はほとんど確認されず、前立腺周囲の静脈は内陰部静脈と交通しており、被膜内血管あるいは浅背静脈を形成していた。前立腺周囲の静脈が内陰部静脈と交通している事実は、前立腺全摘における DVC 処理において、時に遭遇する尿道の側方からの出血を十分説明するものであり、実際の血管の走行は長く信じられてきた従来の概念と逆であった。術前に血管走行をシュミレーションすることでより確実な対応が可能となってきた。DVC の処理法についてはソフト凝固の方法を検討し、遠位端は収束結紮とバイポーラソフト凝固をオートステップモードで使うことが最も確実との結論に到達した。短期の検討ではあるが、こられるの研究を開始する以前の 2008 年 5 月から 2009 年 1 月に 1 人の術者により実施された前立腺全摘 43 例 (コントロール) と最終的に止血方法を確立した 2009 年 9 月以降の 6 例において出血量は平均 632ml から 370.5ml と減少。前立腺尖部に癌の局在がある症例における尖部切除断端陰性率に関する検討では比較可能なコントロール 43 例と止血方法を確立した 2009 年 3 月以降の 26 例で 65% から 85.7% にアウトカムは改善したことを確認した。

骨盤堅固定浸潤再発癌に対する手術適応を条件として: 1. 骨盤内に限局する単発再発巣 2. Sciatic notch や sacral promontory など高位に再発巣が進展しない。3. 外腸骨動静脈やソケイリンパ節に転移、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項目を決定した。本術式ではdouble stomaでの生活となりQOL低下が危惧される。しかし、再発や拡大手術などを経験したこのpopulationでは必ずしも、double stomaでの生活はQOL低下に結びつかず、長期生存例の多くは職場復帰した。また神経切除に伴う術後疼痛は一定期間高度で、術後6ヶ月ないし一年間の緩和ケアが必要であった。

膵がん、下部胆道がん手術後の膵液瘻発生率は65例中28例(43.1%)であった。膵液瘻の予測に関する単因子解析ではドレーンアミラーゼ値(D-amy)、培養を含めた8因子が有意に相関したが、多因子解析の結果 POD1D-amy \geq 10000、POD3D-culture(+)の2因子に有意な相関を認めた。この両者を満たす症例32例中膵液瘻が発生したのは25例(78%)で、両者を満たさない症例33例中3例(9%)に膵液瘻が発生した。この3例中2例はPOD5D-amy $<$ 1000であったことを鑑み、安全なドレーン抜去要件を POD1D-amy $<$ 10000、POD3D-culture(-)、POD5D-amy $<$ 1000と決定した。

D. 考察

α GalCer+IL2 刺激単核球用に最適化され、且臨床使用可能な培養システムを開発した。このシステムを用いて製造した、培養細胞製剤の物性試験並びに非臨床安全性試験結果は、関連指針に準拠しており、臨床応用のための必要条件を満たしている。またレトロウイルスベクターを用いた、単核球へのHAFc γ RIIIa遺伝子発現導入は、低親和性Fc γ RIIIaを持つ患者の抗体療法の治療効果を高めることができると期待される。

テロメラゼ特異的ナノバイオ・ウイルス製剤テロメラインは、癌細胞で選択的に増殖することにより広い範囲の癌細胞死を引き起こす。米国におけるテロメラインの各種進行固形癌に対する第I相臨床試験は終了し、その安全性と体内動態、抗腫瘍活性が明らかとなった。本研究では、前臨床研究としてテロメラインの腫瘍内投与

と局所放射線治療の併用効果が検証され、その分子機構としてアデノウイルスE1B55kDaタンパク質発現が放射線によって生じるDNA障害の修復を阻害することが明らかになってきた。現在で審議中である臨床研究プロトコールが承認された後、厚生労働省 厚生科学審議会科学技術部に提出し、本邦で初めてとなるウイルス治療と放射線治療による集学的治療の早期の臨床応用を進める。

GPC3 ペプチドワクチンは、悪性黒色腫、小児がん、卵巣明細胞がん、肺扁平上皮がんにも発現しており、それらのがん種に対しても、他施設と連携し、臨床試験の実施体制を整える。GPC3 ペプチド特異的CTLクローンの解析について他のGPC3発現がん細胞株を用いた解析などを行ない、細胞療法の臨床応用を目指す。がん特異抗原HSP105について標的としたペプチドワクチンの臨床応用をスタートする。

照射領域を確認するシステム及び照射方法を正確にシミュレートするシステム利用した高精度陽子線治療がactivity分布計算アルゴリズムであるTEA-PBA及び線量分布計算アルゴリズムであるDMS-PBAによって、提供可能となると示されたActivity分布計算において、モンテカルロ法と比べTEA-PBAでは原子核破碎反応の反応率を実測することで精度向上に、また、ペンシルビーム化することで数日から数分へ計算時間の大幅な短縮がもたらされる。更にactivity分布の計算精度を向上させるには、患者個別で正確な人体構成要素を把握する必要がある。線量分布計算において、DMS-PBAでは、体内中の深部に応じて散乱が大きくなるに従って、デルタ関数で再細分化する手法を取り入れることで、更に高精度の線量分布計算が可能になると期待できる。

5アミノレブリン酸の蛍光スペクトルの分布と病理診断を正確に比較することが可能となった。特に、分布を確認することにより、どの程度の範囲にPpIXが集積するかを検討することが可

能となった。ある組織では1mm程度の局所的領域にある腫瘍にもPpIXが集積し、蛍光を発していることがわかった。5mm角の組織片の中でも蛍光スペクトルは大きく変化していることがわかった。他の先行研究では不可能であった、病理診断と蛍光スペクトルの精確な比較により、腫瘍判別に有効である特徴量を発見できる可能性が示された。様々な症例に対して計測を行い、5-ALA誘導PpIXの蛍光による腫瘍判別が適応可能な症例範囲を見出す必要がある。肉眼による観察ではFalse Positiveとして扱われる症例も、蛍光スペクトルを計測することで非腫瘍であることを特定できる可能性が示された。

新規放射線治療システムの評価にて、四次元CTおよび呼吸同期照射の有用性を確認した。体幹部定位照射にこれらの治療技術を導入することで、進行期症例や呼吸機能不良症例への適応拡大や、肺癌以外の疾患への適応拡大が期待される。また、縦隔近傍肺癌に対する最適な照射分割法の決定、定位照射前後の追加治療、再発時の後治療、等の検討も必要と思われる。

ラジオ波熱凝固療法による重篤な合併症はなく、本治療法は比較的安全的な局所療法と考えられる気胸に関しては、手技の安定化に伴いドレナージを必要とするものの頻度は初期に比べてかなり減少した。今後は3年以上の長期予後の評価が必要である。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り、実際再RFA施行例をすでに経験している。

前立腺全摘の処理において尖部処理は機能的、腫瘍学的アウトカムに大きく関与するが個体差があり技術が必要であった。今回3次元MRIを駆使し前立腺静脈叢の描出に成功し従来考えられていた静脈叢の構造は不正確であることを確認

したことより、より確実な止血操作が可能となった。更にソフト凝固を適応することで当初の目的は達成した。

骨盤壁固定浸潤癌に対する手術適応と安全で合理的な手術法が開発された。直腸癌局所再発に対する欧米における治療法は術前chemoradiation+切除+術中照射などを組み合わせたmultimodality therapyが標準とされている。今後薬物療法をも含めた合併療法の検討が必要である。

安全な膵頭十二指腸切除術の術式の工夫により術後合併症を減らす努力をしてきたが、術後管理としての持続吸引ドレーンの導入により、膵液瘻の発生頻度を低下させ、在院日数を短縮、その結果手術死亡率も低下させられることを証明してきた。またドレーンの早期抜去に関してはsoft pancreasでは3,5PODでD-amyが低くても7PODで再上昇し、膵液瘻が発生する可能性があることを指摘し、安全なドレーン抜去の要件を定義するため、ドレーン排液の培養の結果を合わせ検討した結果、今回の結果のごとく基準ができたことは重要と考える。今後はこの抜去要件で5~6PODでのドレーン抜去をprospectiveに行い、安全性を確認予定である。

E. 結論

がん治療を目的とした治療薬の多くは分子標的治療薬であり、分子量、分子構造の明確な小分子物質は製薬メーカーを中心に開発が進められている。アカデミア発の治療開発で注目されているのは本研究で行っている、細胞療法、ワクチン療法、ウイルス治療、遺伝子治療など抗体以外の大分子物質を用いたものが多い。しかし、臨床導入できているものは数多くない。本研究班ではGMPレベルでえられた細胞（リンパ球）、ワクチン、ウイルスを用い厳密な臨床試験を開始している点で極めてユニークであり、かつ期待される分野と思われる。

放射線治療は新しい機器の導入と高度の診断

技術の併用により精密な照射が可能となっている。陽子線治療で照射された部位を可視化できる技術の導入は治療成績の飛躍的向上と毒性の軽減をもたらさう。又、放射線治療の quality assurance の徹底により精度の高い治療が可能となりつつある。脳腫瘍に対しては光線力学的診断・治療の併用により確実に癌部を取り除くことができ、治療成績の向上が期待されている。QOLの悪い小型肺癌に対するラジオ波熱凝固療法の導入は患者に対し福音をもたらすと思われる。

胃がん、前立腺がん、膵がん、大腸がんに対し、各々至適の手術方法が開発された。手術術式の妥当性、均てん化については今後の問題と思われる。

当班でえられた成果は革新的であるが故に、未だ preliminary なものが多く、臨床試験でその意義を明確にする必要がある。

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表 論文発表

1. Kim. Y.K, Ishi. i G, Goto. K, Ota. S, Kubota. K, Murata. Y, Mishima. M, Saijo. N., Nishiwaki. Y, Ochiai. A., Expression of breast cancer resistance protein is associated with a poor clinical outcome in patients with small-cell lung cancer. ELSEVIER, Lung Cancer 65,105-111,2009
2. Saito. Y, Sai. K, Maekawa. K, Shirao. K, Hamaguchi. T, Yamamoto. N, Kunitoh. H, Ohe. Y, Yamada. Y, Tamura. T, Yoshida. T, Minami. H, Ohtsu. A, Matsumura. Y, Saijo. N. and Sawada. J., Close Association of UGT 1A9 IVS1+399C>T with UGT 1A1 *28、*6, or *60 Haplotype and its apparent influence on 7-Ethy-10-hydroxycomptothecin (SN-38) Glucuronidation in Japanese., Drug Meta. and Dupos. 37(2):272-276, 2009
3. Kunitoh. H, Tamura. T, Shibata. T, Imai. M, Nishiwaki. Y, Nishio. M, Yokoyama. A, Watanabe. K, Noda. K, and Saijo. N., JCOG Lung Cancer Study Group, Tokyo, Japan., A randomized trial intrapericardial bleomycin for malignait pericardial effusion with lung cancer(JCOG9811), B. J. Cancer(2009)100:464-469, 2009
4. Sekine. I, Shimizu. C, Nishiio. K, Saijo. N. and Tamura. T., A literature review of molecular markers predictive of clinical renponse to cytotoxic chemotherapy in patients with breast cancer., Int J Clin Oncol 14(2):112-119, APL 2009
5. Matsubara. J, Ono. M, Negish. i A, Ueno. H, Okusaka. T, Furuse J, Furuta. K, Sugiyama. E, Chiba. T, Saijo. N., Hirohashi. S and Yamada. T., Identification of a Predictive Biomarker for Hematologic Toxicities of Gemcitabine., J Clin. Oncol. 27(13):2261-2268, 2009
6. Takeda. K, Ne 4 goro. S, Tamura. T, Nishiwaki. Y, Kudoh. S, Yokota. S, Matsui. K, Semba. H, Nakagawa. K, Takeda. Y, Ando. M, Shibata. T and Saijo N., Phase III trial of docetaxel plus gemcitabine versus docetaxel second - line treatment for non-small cell lung cancer: results of a Japan Clinical Oncology Group trial(JCOG0104), Ann Oncol. 20: 835-841, 2009
7. Saijo. N., Takeuchi. M and Kunitoh. H., Reasons for response differences seen in the V15-32, INTEREST and IPASS trials., Nature Rev. Clin. Oncol. 6(6):287-294, 2009

8. Kim. Y.H, Kubota. K, Goto. K, Yoh. K, Niho. S, Ohamatsu. H, Saijo. N and Nishiwaki. Y., A Phase I study of Gemcitabin and Carboplatin in Patients with Advanced Non-Small Cell Lung Cancer and a Performance Status of 2., Jpn J Clin Oncol, 39(9):576-581, 2009
9. Mok. T.S, Wu Y.L, Thongprasert. S, Yang. C.H, Chu. D.T, Saijo.N, Sunpaweravong. P, Han. B, Margono. B, Ichinose. Y, Nishiwaki.Y, Ohe.Y, Yang J.J, Cehwaskulyong B, Jian. H, Duffield. E.L, Watkins. C.L, Armour. A.A and Fukuoka. M., Gefitinib or Carboplatin-Paclitaxel in Pulmonary Adenocarcinoma., New Eng J Med, 361(10):947-957, 2009(Sep 3, 2009)
10. Sekine. I , Ichinose. Y, Nishiwaki. Y, Yamamoto. N, Tsuboi. M, Nakagawa. N, Shinkai. T, Negoro. S, Imamura. F, Eguchi. K, Takeda. K, Itoh. Y, Tamura. T, Saijo. N and Fukuoka. M., Quality of life and disease-related symptoms in previously treated Japanese patients with non-small cell lung cancer: Result of a randomized phase III study(V-15-32) of gefitinib versus decetaxel., Ann Oncol 20, 1483-1488, 2009(12 March 2009)
11. Kim. Y.H, Kubota. K, Goto. K, Yoh. K, Niho. S, Ohmatsu. H, Saijo. N, Nihiwaki. Y., A phase I study of Gemcitabine and Carboplatin in patients with advanced non-small cell lung cancer and a performance status of 2., Jpn J Clin Oncol, 39(9)576-581, 2009
12. Matsumoto. K, Arao. T, Tanaka. K, Kaneda. H, Kudo. K, Fujita. Y, Tamura. D, Aomatsu. K, Tamura. T, Yamada. Y, Saijo. N and Nishio. K., mTOR signal and Hypoxia-Inducible Factor-1 α regulate CD133 expression in cancer cells., Cancer Res 2009;69(18),7160-7164, Sep 15 2009
13. Kubota. K, Niho.S, Enatsu. S, Nambu. Y, Nishiwaki. Y, Saijo.N and Fukuoka.M., Efficacy Differences of Pemetrexed by Histology in Pretreated Patients with Stage III B/IV Non-Small Cell Lung Cancer, Review of results from an open-label randomized phase II study, J Thora Oncol, 4(12):1530-1536, 2009
14. Yamamoto. N, Tamura. T, Kurata. T, Yamamoto. N, Sekine. I, Kunitoh. H, Ohe. Y, Saijo. N., A dose- finding and pharmacokinetic study of nedaplatin in elderly patients with advanced non-small cell lung cancer, Cancer Chemother Pharmacol 65: 79-88, 2009
15. Sangha. R, Lara. P.N, Adjei. A.A, Baas. P, Choy. H, Gasper. L.E, Goss. G, Saijo.N, Schiller. J.H, Vokes. E-E, Gandara. D.R., Cooperative Group Research Endeavors in Small - Cell Lung Cancer: Current and Future Directions., Clin Lung Cancer, 11(5), 322-330, 2009
16. Gandara. D, Kawaguchi. T, Crowley. J, Moon. J, Furuse. K, Kawahara. M, Teramukai. S, Ohe. Y, Kubota. K, Williamson. S.K, Gautschi. O, Lenz. H.J, Mcleod. H.L, Lara. P.N, Jr. Coltman. C.A, Fukuoka. M, Saijo.N, Fukushima. M, Mack. P-C., Japanese-US Common-Arm Analysis of Paclitaxel Non-Small-Cell Lung Cancer: A Model for Assessing Population-related Pharmacogenomics., J Clin Oncol., 27(21), 3540-3546, 2009

17. Walelee. H, Loo. B.W, Jr. Kernsitine. K.H, Putnam. J.B, Jr. Edelman. M.E, Vokes. E.E, Schiller. J.H, Baas.P, Saijo.N, Adjei. A, Goss.G, Choy.H and Gandara.D.R., Cooperative Group Research Efforts in Thoracic Malignancies 2009: A Review from the 10th Annual International Lung Cancer Congress, Clin.Lung Cancer, 10(6), 398-404, 2009
18. Fujii. T, Kunikane. H, Okamoto. H, Watanabe. K, Kunitoh. H, Mori. K, Yokoyama. A, Fukuda. H, Tamura. T and Saijo. N., A phase II study of cisplatin and irinotecan as induction chemotherapy followed by accelerated hyperfractionated thoracic radiotherapy with daily low-dose carboplatin in unresectable stage III non-small cell lung cancer: JCOG 9510, Jpn Clin Oncol (JJCO), 39(12):784-790, 2009
19. Kunitoh.H, Tamura. T, Shibata. T, Nakagawa. K, Takeda. K, Nishiwaki. Y, Osaki. Y, Noda. K, Yokoyama. A, Saijo. N and JCOG Lung Cancer Study Group., A phase II trial of dose-dense chemotherapy in patients with disseminated thymoma: report of a Japan Clinical Oncology Group trial(JCOG9605), British J. Cancer, 101(9), 1549-1554, 2009
20. Tatewaki N, Maekawa K, Katori N, Kurose K, Kaniwa N, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Nokihara H, Sekine I, Tamura T, Yoshida T, Saijo N, Saito Y, Sawada J. Genetic variations and haplotype structures of the glutathione S-transferase genes, GSTT1 and GSTM1, in a Japanese patient population., Drug Metab. Pharmacokinet, 24(1), 118-126, 2009
21. Tsuboi M, Ezaki K, Tobinai K, Ohashi Y, Saijo N., Weekly administration of epoetin beta for chemotherapy-induced anemia in cancer patients: results of a multicenter, Phase III, randomized, double-blind, placebo-controlled study., Jpn. J. Clin. Oncol., 39(3), 163-168, 2009
22. Nishio. T, Miyatake. A, Ogino.T, Nakagawa. K, Saijo. N and Esumi. H., The Development and clinical use of a beam on-line pet system mounted on a rotating gantry port in proton therapy., Int.J.Radiation Oncol.Biol .Phys., 76(1), 277-286, 2010
23. Matsubara. J, Ono.M, Honda. K, Negishi. A, Ueno. H, Okusaka. T, Furuse. J, Furuta.K, Sugisya. E, Saito. Y, Kaniwa. N, Sawada. J, Shoji. A, Sakuma. T, Chiba.T, Saijo. N, Hirohashi. S and Yamada. T., Survival prediction for pancreatic cancer patients receiving gemcitabine treatment., MCP papers in press 2010
24. Nagano.T, Kim Y-H, Goto. K, Kubota. K, Ohmatsu. H, Niho. S, Yoh.K, Naito. Y, Saijo. N, Nishiwaki. Y., Re-Challenge chemotherapy for relapsed non-small - cell lung cancer., Lung Cancer in press, 2010
25. Kurosawa S, Fukuda T, Tajima K, Saito B, Fuji S, Yokoyama H, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y. Outcome of 93 patients with relapse or progression following allogeneic hematopoietic cell transplantation. Am J Hematol. 2009 Dec;84(12):815-20. Heike Y. [Gene therapy for myeloid leukemia] Nippon Rinsho. 2009 Oct;67(10):1958-63.

26. Soeda A, Morita-Hoshi Y, Makiyama H, Morizane C, Ueno H, Ikeda M, Okusaka T, Yamagata S, Takahashi N, Hyodo I, Takaue Y, Heike Y. Regular dose of gemcitabine induces an increase in CD14+ monocytes and CD11c+ dendritic cells in patients with advanced pancreatic cancer. *Jpn J Clin Oncol.* 2009 Dec;39(12):797-806.
27. Fuji S, Kim SW, Mori S, Kamiya K, Yoshimura K, Yokoyama H, Kurosawa S, Saito B, Takahashi T, Kuwahara S, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y and Fukuda T. Intensive glucose control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective matched-cohort study. *Bone marrow transplant*, 44(2):105-11, 2009
28. Fuji S, Kim SW, Mori S, Furuta K, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y and Fukuda T. Decreased insulin secretion in patients receiving tacrolimus as GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic SCT. *Bone marrow transplant* 2009
29. Ikeda Y, Kojima T, Kuroda S, Endo Y, Sakai R, Hioki M, Kishimoto H, Uno F, Kagawa S, Watanabe Y, Hashimoto Y, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T. A novel antiangiogenic effect for telomerase-specific virotherapy through host immune system. *J. Immunol.*, 2009; 182: 1763-1769.
30. Kurihara Y., Watanabe Y, Onimatsu H, Kojima T, Shirota T, Hatori M, Liu D, Kyo S, Mizuguchi H, Urata Y, Shintani S, Fujiwara T. Telomerase-specific virotheranostics for human head and neck cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 2335-2343
31. Nakajima O, Matsunaga A, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T, Kawakami K. Telomerase-specific virotherapy in an animal model of human head and neck cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 171-177.
32. Ouchi M., Kawamura H, Urata Y, Fujiwara T. Antiviral activity of cidofovir against telomerase-specific replication-selective oncolytic adenovirus, OBP-301 (Telomelysin). *Invest. New Drugs*, 2009; 27: 241-245.
33. Liu D, Kojima T, Ouchi M, Kuroda S, Watanabe Y, Hashimoto Y, Onimatsu H, Urata Y, Fujiwara T. Preclinical evaluation of synergistic effect of telomerase-specific oncolytic virotherapy and gemcitabine for human lung cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 980-987.
34. Maida Y, Kyo S, Sakaguchi J, Mizumoto Y, Hashimoto M, Mori N, Ikoma T, Takakura M, Urata Y, Fujiwara T, Inoue M. Diagnostic potential and limitation of imaging cancer cells in cytological samples using telomerase-specific replicative adenovirus. *Int. J. Oncol.*, 2009; 34: 1549-1556.
35. Takakura M, Nakamura M, Kyo S, Hashimoto M, Mori N, Ikoma T, Mizumoto Y, Fujiwara T, Urata Y, Inoue M. Intraperitoneal administration of telomerase-specific oncolytic adenovirus sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin and affects survival in a xenograft model with peritoneal dissemination. *Cancer Gene Ther.*, 2009; (Epub ahead of print)
36. Kishimoto H, Zhao M, Hayashi K, Urata Y,

- Tanaka N, Fujiwara T, Penman S, Hoffman RM. In vivo internal tumor illumination by telomerase-dependent adenoviral GFP for precise surgical navigation. Proc. Natl. Acad. Sci. U S A, 2009; 106: 14514-14517.
37. Kojima T, Hashimoto Y, Watanabe Y, Kagawa S, Uno F, Kuroda S, Tazawa H, Kyo S, Mizuguchi H, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T. A simple biological imaging system for detecting viable human circulating tumor cells. J. Clin. Invest., 2009; 119: 3172-3181.
38. Nakajima O, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T, Horibe T, Kohno M, Kawakami K. Use of telomelysin (OBP-301) in mouse xenografts of human head and neck cancer. Oncol. Rep., 2009; 22: 1039-1043.
39. Kishimoto H, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T, Hoffman RM. Selective metastatic tumor labeling with GFP and killing by systemic administration of telomerase-dependent adenoviruses. Mol. Cancer Ther., 2009; 8: 3001-3008.
40. Nemunaitis J, Tong AW, Nemunaitis M, Senzer N, Phadke AP, Bedell C, Adams N, Zhang YA, Maple PB, Chen S, Pappen B, Burke J, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T. A phase I study of telomerase specific replication competent oncolytic adenovirus (Telomelysin) for various solid tumors. Mol. Ther., 2009; (Epub ahead of print).
41. Fujiwara T. Telomerase-specific virotherapy for human squamous cell carcinoma. Expert Opin. Biol. Ther., 2009; 9: 321-329.
42. Fujiwara T, Urata Y, Tanaka N. Telomerase-specific gene and vector-based therapies for human cancer. In "Telomeres and Telomerase in Cancer" (Hiyama, K., ed.), pp293-312, Humana Press, New York, USA, 2009.
43. Horie K, Tsuchihara M, Nakatsura T. Silencing of SPARC inhibits the growth of human melanoma cells with G1 arrest induction. Cancer Sci. 2009, in press.
44. Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2009, in press.
45. Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Cancer Sci. 2009; 100:1403-1407.
46. Hayashi E, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Oba N, Nishinakagawa S, Mizuguchi Y, Kojima T, Nomura K, Nakatsura T. Detection of glypican-3-specific CTLs in chronic hepatitis and liver cirrhosis. Oncol Rep. 2009; 22:149-154.
47. Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for component

- of Hepatocellular Carcinoma in Human Liver Cancer. *Int J Oncol.* 2009; 34:649-656.
48. Tanaka-Harada Y, Kawakami M, Oka Y, Tsuboi A, Katagiri T, Elisseeva O, Nishida S, Shirakata T, Hosen N, Fujiki F, Murao A, Nakajima H, Oji Y, Kanda Y, Kawase I, Sugiyama H. Biased usage of BV gene families of T cell receptors of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific CD8⁺ T cells in patients with myeloid malignancies, *Cancer Science*, in press.
 49. Murao A, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Harada Y, Fujiki F, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Shirakata T, Hashimoto N, Myoui A, Ueda T, Takeda Y, Osaki T, Enomoto T, Yoshikawa H, Kimura T, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H. High frequencies of less differentiated and more proliferative WT1-specific CD8⁺ T cells in bone marrow (BM) in tumor-bearing patients: an important role of BM as a secondary lymphoid organ. *Cancer Science*, in press.
 50. Tamura H, Dan K, Yokose N, Iwakiri R, Ohta M, Sakamaki H, Tohyama K, Kondo A, Hyodo H, Nakamura K, Yamashita T, Elisseeva O, A, Oka Y, Oji Y, Sugiyama H, Ogata K. Prognostic Significance of WT1 mRNA and anti-WT1 Antibody Levels in Peripheral Blood in Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia Research*, in press.
 51. Ohta H, Hashii Y, Yoneda A, Takizawa S, Kusuki S, Tokimasa S, Fukuzawa M, Tsuboi A, Murao A, Oka Y, Oji Y, Aozasa K, Nakatsuka S, Sugiyama H, Ozono K. WT1 (Wilms' tumor 1) peptide immunotherapy for childhood rhabdomyosarcoma, *Pediatric Hematol. and Oncol*, 2009; 26: 74-83.
 52. Ohno S, Dohi S, Ohno Y, Kyo S, Sugiyama H, Suzuki N, Inoue M. Immunohistochemical Detection of WT1 protein in endometrial cancer, *Anticancer Res* 2009; 29: 1691-5.
 53. Nishio T., Miyatake A., Ogino T., Nakagawa K., Saijo N., Esumi H. The development and clinical use of a beam ON-LINE PET system mounted on a rotating gantry port in proton therapy. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 2009 in press.
 54. Miyatake A., Nishio T., Ogino T., Saijo N., Esumi H., Uesaka M. Measurement and verification of positron emitter nuclei generated at each treatment site by target nuclear fragment reactions in proton therapy. *Med. Phys.* 2009 in submission.
 55. Chernov M, Muragaki Y, Ochiai T, Taira T, Ono Y, Usukura M, Maruyam T, Nakay K, Nakamura R, Iseki H, Kubo O, Hori T, Takakura K, Spectroscopy-supported frame-based image-guided stereotactic biopsy of parenchymal brain lesions: Comparative evaluation of diagnostic yield and diagnostic accuracy. *Clin. Neurol. and Neurosurg*, 111 2009 ; 527- 535
 56. Muragaki Y, Mikhail Chernov, Tajika Y, Kubo O, Iseki H, Hori T, Takakura K, Coincidence of central neurocytoma and multiple glioblastomas. a rare case report. *J Neurooncol* 2009; 93:431- 435

57. Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Iseki H, Identification of the Pyramidal tract by Neuronavigation Based on Intraoperative Diffusion-Weighted Imaging Combined with Subcortical Stimulation. *Stereotact Funct Neurosurg* 2009; 87:18-24
58. Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Hori T, Iseki H, Shift of the Pyramidal Tract During Resection of the Intraaxial Brain Tumors Estimated by Intraoperative Diffusion-Weighted Imaging. *Neurol Med Chir(Tokyo)* 2009; 49 :51-56
59. Ikuta S, Muragaki Y, Maruyama T, Ogata T, Iseki H, Assessment of Effect and Toxicity of Temozolomide Combined with Radiation Therapy for Newly-Diagnosed Glioblastoma in Japan. *J Tokyo Wom Med Univ.* 2009; 79(12):12-17
60. Nagata Y, Hiraoka M, Mizowaki T, Narita Y, Matsuo Y, Norihisa Y, Onishi H, Shirato H. Survey of stereotactic body radiation therapy in Japan by the Japan 3-D Conformal External Beam Radiotherapy Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 343-347.
61. Inoue T, Shimizu S, Onimaru R, Takeda A, Onishi H, Nagata Y, Kimura T, Karasawa K, Arimoto T, Hareyama M, Kikuchi E, Shirato H. Clinical Outcomes of Stereotactic Body Radiotherapy for Small Lung Lesions Clinically Diagnosed as Primary Lung Cancer on Radiologic Examination. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 683-687.
62. Nakamura M, Narita Y, Matsuo Y, Narabayashi M, Nakata M, Sawada A, Mizowaki T, Nagata Y, Hiraoka M. Effect of audio coaching on correlation of abdominal displacement with lung tumor motion. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 558-563.
63. Kaneyasu Y, Nagai N, Nagata Y, Hashimoto Y, Yuki S, Murakami Y, Kenjo M, Kakizawa H, Toyota N, Fujiwara H, Kudo Y, Ito K. Intra-arterial infusion chemotherapy using cisplatin with radiotherapy for Stage III squamous cell carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 369-377.
64. Kenjo M, Uno T, Murakami Y, Nagata Y, Oguchi M, Saito S, Numasaki H, Teshima T, Mitsumori M. Radiation therapy for esophageal cancer in Japan: results of the Patterns of Care Study 1999-2001. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 357-363.
65. Sakamoto T, Oya N, Shibuya K, Nagata Y, Hiraoka M. Dose-response relationship and dose optimization in radiotherapy of postoperative keloids. *Radiotherapy and Oncology* 2009; 91: 271-276.
66. Matsuura K, Kimura T, Kashiwado K, Fujita K, Akagi Y, Yuki S, Murakami Y, Wadasaki K, Monzen Y, Ito A, Kagemoto M, Mori M, Ito K, Nagata Y. Results of a preliminary study using hypofractionated involved field radiation therapy and concurrent carboplatin/paclitaxel in the treatment of locally advanced Non-Small-Cell lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2009; 14: 408-415.
67. Numasaki H, Teshima T, Shibuya H, Nishio M, Ikeda H, Ito H, Sekiguchi K, Kamikonya N, Koizumi M, Tago M, Nagata Y, Masaki H,

- Nishimura T, Yamada S. National structure of radiation oncology in Japan with special reference to designated cancer care hospitals. *Int J Clin Oncol* 2009; 14: 237-244.
68. Sanuki-Fujimoto N, Sumi M, Ito Y, Imai A, Kagami Y, Sekine I, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Ikeda H. Relation between elective nodal failure and irradiated volume in non-small-cell lung cancer (NSCLC) treated with radiotherapy using conventional fields and doses. *Radiotherapy and Oncology*. 2009; 91(3): 433-437.
69. Sekine I, Sumi M, Ito Y, Tanai C, Nokihara H, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T., Gender Difference in Treatment Outcomes in Patients with Stage III Non-small Cell Lung Cancer Receiving Concurrent Chemoradiotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2009; 39(11): 707- 712.
70. Itami J, Sumi M, Beppu Y, Chuman H, Kawai A, Murakami N, Morota M, Mayahara H, Yoshimura R, Ito Y. High-Dose-Rate Brachytherapy Alone in Postoperative Soft Tissue Sarcomas with Close/Positive Margins. *Brachytherapy* 2009; in press
71. Watanabe S, and Asamura H. Lymph node dissection for lung cancer: significance, strategy, and technique. *J Thorac Oncol*. 2009 ;4(5):652-7.
72. Chang JW, Asamura H, Kawachi R, and Watanabe S. Gender difference in survival of resected non-small cell lung cancer: histology-related phenomenon? *J Thorac Cardiovasc Surg*. 2009 ;137(4):807-12.
73. Kawachi R, Watanabe S, and Asamura H. Clinicopathological characteristics of screen-detected lung cancers. *J Thorac Oncol*. 2009 May;4(5):615-9. Erratum in: *J Thorac Oncol*. 2009;4(8):1045.
74. Nishiyama N, Yamamoto S, Matsuoka N, Fujimoto H, and Moriya Y. Simultaneous laparoscopic descending colectomy and nephroureterectomy for descending colon carcinoma and left ureteral carcinoma: report of a case. *Surg. Today* 2009; 39: 728-732.
75. Uemura H, Shinohara N, Yuasa T, Tomita Y, Fujimoto H, Niwakawa M, Mugiya S, Miki T, Nonomura N, Takahashi M, Hasegawa Y, Agata N, Houk B, Naito S, and Akaza H. A Phase II Study of Sunitinib in Japanese Patients with Metastatic Renal Cell Carcinoma: Insights into the Treatment, Efficacy and Safety. *Jpn. J. Clin. Oncol* 2009; 7.
76. Nakagawa T, Kanai Y, Komiyama M, Fujimoto H, and Kakizoe T. Characteristics of prostate cancers found in specimens removed by radical cystoprostatectomy for bladder cancer and their relationship with serum prostate-specific antigen level. *Cancer Sci* 2009; 100: 1880- 1884.
77. Hinotsu S, Akaza H, Miki T, Fujimoto H, Shinohara N, Kikuchi E, Mizutani Y, Koga H, Okajima E, and Okuyama A, Japanese Urological Association. Bladder cancer develops 6 years earlier in current smokers: analysis of bladder cancer registry data collected by the cancer registration committee of the Japanese Urological Association. *Int. J. Urol*

- 2009; 16: 64-69.
78. Kikuchi E, Fujimoto H, Mizutani Y, Okajima E, Koga H, Hinotsu S, Shinohara N, Oya M, Miki T, and the Cancer Registration Committee of the Japanese Urological Association. Clinical outcome of tumor recurrence for Ta, T1 non-muscle invasive bladder cancer from the data on registered bladder cancer patients in Japan: 1999-2001 report from the Japanese Urological Association. *Int. J. Urol* 2009; 16: 279-286.
79. Sakuraba M, Asano T, Yano T, Yamamoto S, and Moriya Y. Reconstruction of an enterocutaneous fistula using a superior gluteal artery perforator flap. (Case report) *JPRAS* 62: 108-111, 2009.
80. Kusters M, C.J.H. van de Velde, R.G.H. Beets-Tan, Akasu T, Fujita S, Yamamoto S, and Moriya Y. Patterns of local recurrence in rectal cancer: A single-center experience. *Ann Surg Oncol* 16:289-296, 2009.
81. Ishiguro S, Yamamoto S, Fujita S, Akasu T, Kusters M, and Moriya Y. Pelvic exenteration for clinical T4 rectal cancer: oncologic outcome in 93 patients at a single institution over a 30-year period. *Surgery* 145(2): 189-195, 2009.
82. Kusters M, Beets GL, Van de Velde CJH, Beets-Tan RG, Marijnen CA, Rutten HJ, Putter H, and Moriya Y. A comparison between the treatment of low rectal cancer in Japan and the Netherlands, with focus on the patterns of local recurrence. *Annals of Surgery* 249(2):229-235, 2009.
83. Fujita S, Yamamoto S, Akasu T, and Moriya Y. Risk factors of lateral pelvic lymph node metastasis in advanced rectal cancer. *Int J Colorectal Dis* 24: 1085-1090, 2009.
84. Akasu T, Sugihara K, and Moriya Y. Male urinary and sexual function after mesorectal excision alone or in combination with extended lateral pelvic lymph node dissection for rectal cancer. *Ann Surg Oncol* 10: 2779-2786, 2009.
85. Moriya Y. Differences in rectal cancer surgery east versus west. *Lancet Oncol* 10: 1026-1027, 2009.
86. Rahbari N, Weitz J, Hohenberger W, Jeald RJ, Moran B, Ulrich A, Holm T, Wong W.D, Tiret E, Moriya Y, Laurberg S, Dulk M, Van de Velde CJ, and Büchler MW. Definition and grading of anastomotic leakage following anterior resection of the rectum- A proposal by the international study group of rectal cancer (ISREC). *Surgery 2009 in press*
87. Nakagohri T, Kinoshita T, Konishi M, Takahashi S, Gotohda N, Kobayashi S, Kojima M, Miyauchi H, and Asano T. Inferior head resection of the pancreas for intraductal papillary mucinous neoplasms. *J. Hepatobiliary. Pancreat. Surg.* 2009; [Epub ahead of print].
88. Fujita T, Nakagohri T, Gotohda N, Takahashi S, Konishi M, Kojima M, and Kinoshita T. Evaluation of the Prognostic Factors and Significance of Lymph Node Status in Invasive Ductal Carcinoma of the Body or Tail of the Pancreas. *Pancreas* 2009; [Epub ahead of print].