

放生検を実施し、同部分の壊死を病理学的に確認した。なお下記のごとく、同生検部分への浸潤リンパ球は DTH 反応の際に認めたリンパ球と同一クローンであることが確認され、細胞障害性 T リンパ球の可能性が示唆された。患者においては、その後も無治療にて仙骨転移病巣は徐々に縮小傾向にあり、他臓器への新たな転移病巣の出現も認められず、さらには腫瘍マーカー (IAP: inactivated acidic protein) は正常レベルでその後も安定化した。平成 13 年 12 月迄 PSO の状態で、経過観察していたが、同年 12 月に右大腿骨転移病変の出現を認めた為、局所放射線照射と低量インターロイキン-2 投与を開始した。その後 PSO で東京大学医科学研究所附属病院 (東大医科研病院) 外来にて経過観察した。平成 17 年 1 月末頃より左腰痛が出現、MRI 等の画像検査結果から左坐骨/左寛骨部位への転移と診断し、同年 2 月 17 日から 3 月 10 日にかけて同部位に対して 30Gy の放射線照射を行った。同年 12 月には腰椎(L1 から L4)の転移を認め、同年 12 月 7 日から 28 日に同部位に 30Gy の放射線照射を追加した。その後は腰痛等の症状は抗炎症剤の投与下にて軽快し、PSO の安定した状態で外来通院ができていたが悪性腫瘍に伴う貧血 (Hb 9g/dl 程度) が出現した。平成 18 年 4 月より再度腰痛が出現したため、同部位に 30Gy の追加照射を行った。平成 19 年 10 月末頃より左頸部腫瘍の出現を認め、摘出標本病理検査結果から腎がん転移であることが判明し同年 12 月 7 日より局所への照射を計 42Gy 行った。その後、肺ならびに胸膜への腎がん転移病巣の増大とともに全身状態の悪化を認め、平成 19 年 12 月 26 日に東大医科研病院に入院された。入院後対症療法を行ったが、転移病巣は急速に増大し両側胸膜炎の悪化をきたし、平成 20 年 1 月 19 日午前 7 時 35 分に死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を 2 日後に実施した (東大医科研病院)。

主要病理解剖診断

腎細胞癌 (右腎原発、摘出後) GM-CSF 遺伝子腫瘍免疫活性化療法後、組織型: 明細胞癌主体、紡錘細胞癌部分も混在する

同上転移: 両肺 (多発性)、両胸膜 (癌性胸膜炎)、横隔膜、胃壁、骨 (両側大腿骨、仙骨腰椎 L4) 同上リンパ節: 左肺門、左頸部

副病理所見

1. 左頸部、両側大腿骨骨頭部放射線照射後状態
2. 下部消化管術後癒着状態、右腎、胆嚢摘出後状態
3. 両肺鬱血水腫 (肺重量 左 750g; 右 680g)、胸水 (黄色透明液 左 700ml; 右 1,200ml)
4. 脾臓萎縮 (30g)、副腎萎縮 (Lt 4.3g, Rt 4.5g)
5. 骨髓低形成骨髓
6. 開頭は許されず

病理医コメント

① 腫瘍免疫作動状態につき: 全身性の広範な転移を認めるが、いずれの転移巣に於いても強い腫瘍壊死を認める。頸部リンパ節転移巣は瘰癧・硝子化するが、当該領域は放射線照射の効果と思われる。非放射線照射域での腫瘍組織の免疫組織化学的解析では、壊死領域近傍腫瘍組織内に比較的強いリンパ球浸潤を認め、その殆どが CD3+T 細胞より構成される。CD20+B 細胞は観察しない。CD4/CD8 の二重染色では、T細胞の殆どが CD8+T 細胞であり、CD4+T 細胞は少数であった。CD8/Ki-67 の二重染色では、細胞回転にある CD8+T 細胞は少数であった。これらの所見は、治療開始後の比較的長期生

存と併せ、意図した抗腫瘍免疫が誘導された証左であると思われる。

② 遺伝子治療に関する有害事象につき：剖検上、遺伝子治療に関連すると思われる有意な有害事象は同定し得なかった。

3) (接種第3症例) 57歳女性、左腎細胞癌、多発性肝転移、多発性肺転移ならびに対側腎転移

平成12年2月22日に 4×10^7 個のワクチン細胞の皮内接種を行い、その後2週間毎に 2×10^7 個の皮内接種を計5回、さらに9回の追加接種を同年9月19日まで行った(計15回、 3.2×10^8 細胞)。この間患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。肝転移病巣の総腫瘍量の増加速度は鈍化したものの次第に増加し、治療効果の判定はPD(進行)であった。ただし、肺ならびに腎臓の小転移病巣のサイズには殆ど変化がなかった。平成12年9月29日に東京大学医科学研究所附属病院を退院後、順天堂大学附属病院へ転院し、入院観察下IL-2、インターフェロン α の接種をそれぞれ検討したが、いずれも開始1週間目より肝機能異常が出現したため各投与を中止した。肝機能異常は投与中止にて改善したため、東大医科研附属病院と順天堂大学附属病院の両外来にて定期的に経過観察を行った。その後、肝転移病巣のサイズが徐々に増加したことから、本人の希望により民間病院にて活性化Tリンパ球療法を受けたが改善を認めず病勢は次第に進行し、東京大学医科学研究所附属病院に入院し、対症療法を実施されたが、平成15年11月2日に腫瘍の全身への転移のため死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を同日に実施した(東大医科研病院)。

主病理解剖診断

腎癌 淡明細胞癌 GM-CSF 遺伝子治療後(3年11ヶ月)
左腎原発(摘出後) 同上転移：肝、右腎、両肺、脾、脳(放射線照射後)
リンパ節(左肺門、右腎門、腹部大動脈周囲)

副病理病変

1. 多発性胃潰瘍+消化管出血
2. 漿膜炎(浸出性心外膜炎、胸膜炎、胸水(左300ml、右80ml))
3. 僧帽弁閉鎖不全および三尖弁閉鎖不全症、心肥大(430g、両房室拡大)
4. 急性尿細管壊死初期像
5. [高カルシウム血症(PTH-rP \uparrow Humoral hypercalcemia of malignancy, compatible)]
6. [麻痺性イレウス]

病理医コメント

- ① 腫瘍免疫誘導効果につき：腎癌の壊死・アポトーシスは殆ど検出できない。浸潤リンパ球はCD8 T cell 優位であるが、granzyme は発現しておらず、またKi-67でもラベルされない。過去に腫瘍免疫が作動した可能性は否定出来ないが、死亡時点でのactiveな抗腫瘍免疫の作動は観察しない。
- ② 副作用につき：自己免疫性腎炎を示唆する正常腎組織へのリンパ球浸潤、上皮の破壊像、糸球体の変化等は認めない。GM-CSF 静脈内投与の副作用として漿膜炎が惹起されたとの報告があるが(ref: Blood 83:2707-2714, 1994)、本例で観察された心外膜炎は① 静脈内投与と遺伝子発現ではその血中GM-CSF量に圧倒的な差をもって後者による発現量が低い点、② 組織像から比較的近い過去に発生した病変である(数ヶ月以内)ことが示唆され遺伝子療法実施期間と時間的隔たりがある点、および③ 当該遺伝子療法を受けた一例の剖検

例では当該病変は検出されていない；の根拠により本遺伝子療法に関連した変化ではないと判定する。おそらく心不全に併発した変化であると推定する。

③ 死因につき：消化管出血（出血源は胃）を引き金とし循環血量の減少などの前腎性の影響により尿細管壊死（腎不全）が加わりあらかじめ存在した心不全と合併し複合的要因により死に至ったと思われる。癌性悪液質は背景にあるが直接死因ではないと思われる。脳転移は放射線照射によく反応している。

④ 筋力低下につき：それを説明する形態的变化は同定し得なかった。電解質異常に関連した症状と思われる。

⑤ 心につき：弁膜症による心拡大を認める。心不全としては肺鬱血よりは肝鬱血が前景に立つ。

⑥ 腸閉塞につき：腸閉塞はモルヒネによる麻痺性イレウスの可能性が高い。器質的閉塞は認めない。

⑦ 血小板減少につき：骨髄での巨核球産生はほぼ正常であった。末梢での破壊機序が示唆される。

4) (接種第4症例) 50歳男性、左腎細胞癌、多発性肺転移

平成12年12月13日に 4×10^7 個のワクチン細胞の皮内接種を行い、その後2週間毎に 2×10^7 個の皮内接種を計5回、平成13年2月20日まで行った(計6回、 1.4×10^8 細胞)。この間患者においては、本遺伝子治療臨床研究を進める上で問題となるような副作用は認められなかった。6回接種後、同年2月26日に実施したCT検査において、右前側頭葉皮質に径1cm弱の腫瘍ならびに周辺浮腫像を認めた。本臨床研究の規定に従い、それ以降の追加接種は行わず、東京大学医学部附属病院放射線科において、同年3月15日に転移性脳腫瘍部位へのγナイフ治療を実施した。その後患者ならびに家族の希望により、同年5月7日より東大医科研附属病院にてIL-2、35-70万単位/日の全身投与を開始した。開始後約1ヶ月目より肺腫瘍量の減少を認めはじめ、約2ヶ月目には23%の縮小を認め、IL-2投与中止後の同年10月現在も約33%の減少状態が維持された。IL-2の投与開始時に一過性に脳浮腫の悪化による痙攣発作を認めたものの、脳腫瘍・浮腫の縮小化に伴いこれらの症状は全く認められなくなり、PSO-1の状態での入院観察中であつたが、平成14年1月に脳腫瘍摘出を東京大学医学部附属病院で行った。平成14年夏頃から肺転移巣の徐々の増大を認め、平成16年7月には脳内に新たな転移巣を認めたため、同年8月にγナイフ治療を施行した。その後脳には新たな病変の出現は認められず、しばらくは外来にて低量IL-2の接種を継続し、PSO~1の状態を経過した。平成18年4月に右胸水貯留に伴う呼吸困難のため入院し、胸腔穿刺、廃液ならびに胸膜癒着術治療を施行した。胸椎への多発転移に伴う痛みのため、放射線治療も要した。肺の多発転移も増加、増大傾向にあり、高カルシウム血症も繰り返した。呼吸困難に対して在宅酸素療法(HOT)を導入し、平成18年8月11日に退院したが、同年10月より呼吸困難が増悪し、10月22日に再入院した。入院後、呼吸不全、貧血、疼痛及び高カルシウム血症等に対して対症療法を行ったが、呼吸不全は徐々に進行し、平成18年12月11日午後6時40分に死亡された。家族の承諾が得られたために剖検を翌日に実施した(東大医科研病院)

主病理解剖診断

腎癌(左腎原発、明細胞癌)術後および免疫遺伝子治療(GM-CSF導入ワクチ

ン細胞6回接種、IL-2投与)後6年、同上浸潤転移:

両肺多発性転移巣形成、右肺下葉より連続性に横隔膜および肝への浸潤巣形成、下大静脈内浸潤を伴う、肝右葉下面から右副腎を巻き込み腹部大動脈周囲浸潤と進展する浸潤転移巣形成、右前頭葉転移、術後、放射線療法後(腫瘍残存認めず)

主要副病理所見

1. 高度うっ血肝・肝内胆汁鬱滞(1,350g:下大静脈浸潤および肝外胆管圧迫による)
2. 脾腫(720g 慢性うっ血脾[脾機能亢進症])
3. 右胸膜癒着術後
4. 急性尿細管壊死
5. 慢性膵炎
6. 腹水(黄色透明液;2,600ml)

病理医コメント

- ① 汎血球減少症につき:骨髄は軽度過形成で3系統細胞に形態的異常を認めない。脾臓の形態所見と併せ脾機能亢進症による汎血球減少症と思われる。その背景要因としては腫瘍の下大静脈浸潤による慢性うっ血が示唆される。
- ② 腫瘍免疫誘導効果につき:剖検時の腫瘍組織は治療前に採取された手術標本に比し有意に増加する細胞死(TUNEL 標識アポトーシス細胞)およびその体積の50%以上の広範な壊死を認めた。
- ③ 腫瘍内浸潤リンパ球の免疫組織化学的解析につき:剖検時の腫瘍組織と手術標本との比較において・浸潤CD3+T細胞数・CD4/CD8細胞比・Ki67標識CD8+T細胞数(CTLの指標)・CD25+細胞数(regulatory T細胞の指標)の諸パラメーターにて有意な差は検出し得なかった。
- ④ 有害事象の有無につき:病理解剖検索において本遺伝子治療により惹起されたとと思われる有害事象は認めなかった。
- ⑤ 死因につき:腫瘍死と思われる。

B. 有害事象

すべての患者でGM-CSF遺伝子導入自家腎癌細胞接種皮膚部分に発赤、腫脹、硬結ならびに掻痒感を認めた。これらの皮膚所見は約2週後には軽度の硬結を残すのみで、無処置にても自然に軽快した。接種第4症例に於いては、第6回目の接種約48時間後に同部位に水疱形成を認めたが、消毒と皮膚部分の保護により数日で軽快し、2週後には軽度の硬結を残すのみの状態に改善した。全身性の副作用として、37度台の発熱(第1度副作用)を接種第1症例で第7-9回の接種時に、接種第2症例で第1-4回の接種時に認めたが、いずれも無処置にて48時間以内に解熱した。接種第2症例では、第12回の接種後、一過性にイレウス症状を来したが、2日間の絶食にて軽快した。本件は腎摘出術に伴う腹膜癒着に由来する機械的イレウスによるものと診断した。なお本症状が治癒した後さらに5回の追加接種を実施したが、同症状の再発は認められなかった事実からも、本事象はワクチン接種との関連性はないものと判断した。その他、血液・生化学検査、尿検査等の一般臨床検査結果からは、ワクチン接種との関連性が示唆される異常所見は認められなかった。また、接種後に定期的に行われた患者末梢血中の複製可能レトロウイルス検査結果から、患者末梢血中にはワクチン接種直後を含め複製可能レトロウイルスは検出されなかった。

その後の長期的観察結果からも、本ワクチン接種は安全に実施されたものと判断された。

C. 免疫反応関連検査結果

(1) 血液・生化学検査等結果：

ワクチン細胞接種後に末梢血中の好酸球の増加が観察された。各例においてはそのピークが GM-CSF 遺伝子導入腎癌細胞接種後 48-96 時間後であった。その他腎機能、肝機能などへのワクチン細胞接種の影響は全く認められなかった。また、各種自己抗体の新たな出現も認められなかった。

(2) DTH (遅延性皮膚反応) 検査結果：

DTH 反応は、いずれの患者においてもワクチン細胞接種後より陽性(硬結サイズが 1cmx1cm 以上を陽性と定義)となった。接種第 1-4 症例とも、第 3 回目もしくは第 6 回目のワクチン接種後に培養自家腎癌細胞接種部位は陽性となり、その中でも接種第 1 症例における反応が最も顕著であった。各患者とも、ワクチン接種回数が多い場合に、培養自家正常腎細胞接種部位も陽性となったが、その反応の程度は、接種第 4 症例を除いては腎癌細胞接種部位と比較した場合には減弱していた。

(3) 病理組織検査：

ワクチン細胞接種部位：各患者間での相違はあるものの、第 3 回接種後までには CD4 陽性細胞優位の T 細胞浸潤と脱顆粒を伴う好酸球浸潤を認めた。接種第 3 症例では好酸球浸潤は少なかったが、単核球浸潤の程度は最も顕著であった。その後の細胞浸潤は、接種第 1,4 症例では減少し、接種第 2,3 症例では増加した。皮内 S100 陽性樹状細胞は特に接種第 1,4 症例で明らかに認められたが、接種第 2,3 症例では明らかではなかった。浸潤細胞の HLA-DR 発現は当初は低レベルであったが 30 日目には各患者で著明に増加していた。

DTH 反応部位：DTH 接種部位の浸潤細胞としては、CD4 陽性細胞が CD8 陽性細胞よりも優位であり、さらには CD68 陽性マクロファージの浸潤も顕著であった。好酸球浸潤も全例で認められたが、その程度は様々であった。浸潤細胞数は腎癌細胞接種部位で優位に多かったが、浸潤細胞の種類と比率は腎癌細胞接種部位とコントロール腎細胞接種部位との間に明らかな差は認められなかった。

腫瘍部位：接種第 1 症例においては、原発巣(手術摘出腎癌)、ワクチン細胞 10 回接種終了後に出現した皮膚転移病巣の生検標本、死亡後に剖検が許可されたことから、IL-2 使用後の転移腫瘍部分標本についての病理学的解析が可能であった。この結果、原発腎癌病巣では CD4 陽性細胞の浸潤が主体であった。皮膚転移病巣では CD8 陽性 T 細胞の浸潤を優位に認め、特にアポトーシスを起こしている部分の周辺には CD68 陽性マクロファージの浸潤も著明に認めた。なお好酸球の浸潤は、DTH 部位とは異なり明らかではなかった。

接種第 2 症例においては、ワクチン細胞 17 回接種終了後 3 ヶ月後に仙骨転移病巣の生検を行った。採取できた同部分の組織は全て壊死に陥っており、CD8 陽性 T 細胞の浸潤を顕著に認めた。

(4) T細胞レパートリー検査：

患者末梢血リンパ球の TCRV β CDR3 配列を検討した結果、接種第 1 症例の末梢血、DTH 部位、皮膚浸潤部位ならびに肺転移縮小部分に、共通な

オリゴクローン性Tリンパ球の浸潤・増生が認められた。接種第2症例でも、末梢血中にオリゴクローン性のTリンパ球増生を認め、これらの一部は仙骨部腫瘍生検部分にも優位に認められた。接種第3症例でも、接種後に末梢血中にオリゴクローン性のTリンパ球増殖を認め、これらのクローンは皮内反応部分ならびに術中の肝生検部分にも認められた。接種第4症例では、明らかなTリンパ球クローンの出現は検出されなかった。

(5) T細胞機能検査

全4例の患者末梢血リンパ球のCD3抗体もしくはIL-2への反応性がワクチン接種後に増加し、自家腎癌細胞障害(CTL)活性の出現も認めた。特に接種第2, 3症例では、培養自家腎癌細胞へのCTL活性を持つリンパ球が末梢血中に長期間存在することが確認された。接種第4症例でも、弱いながらもCTL活性はワクチン接種期間中増加傾向を認め、IL-2投与後もこの活性は維持された。接種第1症例では、CTL活性は腫瘍増大に従って低下する傾向を認めた。

III. 考察

本遺伝子治療臨床研究を終了するにあたり、これまでに得られた結果をもとに、本臨床研究に関して以下の重要な3点を結論としてあげた。

- (1) レトロウイルスベクターを用いて、臨床研究用のスケールで患者接種において短期的ならびに長期的安全性に問題のない GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンを作製することが出来た。しかし、規定以上の GM-CSF 産生量を本ウイルスベクター導入によって確保することは必ずしも容易ではなく、その作製には長い時間と高い費用を要した。今後は、より簡便かつ安定した遺伝子導入細胞の作製法を導入・開発する必要がある。
- (2) GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンの接種により、in vitro での検査結果では患者への抗腫瘍特異的免疫誘導効果は検出されたものの、臨床効果としては腫瘍細胞量の多い患者への本療法のみでの腫瘍縮小効果には限界があることが示唆された。今後は腫瘍量が少なく、再燃までの期間が短いことが予想される腫瘍をもつ患者への使用や、手術後アジュバントとしての使用を臨床研究として考慮すべきであると考えられた。
- (3) 本臨床研究に参加した4名の患者さんにおいては、第1回目のワクチン接種後から、各々11ヶ月、8年7ヶ月、3年9ヶ月ならびに6年間生存されている。特に、2患者が6年以上生存されたことは、腫瘍縮小効果自体は明らかでないものの、第IV期腎癌患者の5年生存率が通常10%程度であることを考慮に入れると、本ワクチン接種が腫瘍増殖速度を遅延化させ生存期間延長に大きく寄与した可能性はあり、この観点からも今後(2)で記載した様な方法を検討していく必要があると考えられた。さらに、免疫遺伝子治療臨床研究の臨床効果の評価項目としては、他の免疫療法と同様に、従来の抗癌剤などに対する効果判定基準以外に、再燃までの期間延長効果や生存期間などの特別な評価基準を設ける必要があるものと考えられた。

IV. 今後の方針

上記のように、本遺伝子治療臨床研究は安全に実施され、科学的に評価可能な抗腫瘍免疫反応が患者体内に誘導されたことを確認できた。但し、上述のごとく GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞ワクチンの作製は必ずしも容易ではなく、当初準備されたレトロウイルスベクターを全て使用し、6例の患者の GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌ワクチン細胞の作製を試み、4例で GM-CSF 産生

	<p>量が基準を満たした。今回の我々の臨床研究結果をふまえ、現在センダイウイルスベクターを用いた GM-CSF 遺伝子導入同種腫瘍細胞を用いた新規樹状細胞療法等の新たな方法を準備中である。この方法を用いる利点としては以下の4点が挙げられる。すなわち、1) 接種局所で高 GM-CSF 濃度を確実に得られる、2) センダイウイルスベクターによる GM-CSF 遺伝子導入を行うため、レトロウイルスベクターを用いて ex vivo での遺伝子導入を行うことに伴う費用と時間が大きく節約できる、3) レトロウイルスベクターを用いる場合に比較し、安全性が高いと考えられる、4) 樹状細胞療法を併用するため、抗腫瘍免疫誘導能が高いと考えられる。</p> <p>無論、マウスを用いた前臨床動物実験では確認されてきているものの、本遺伝子治療臨床研究で検出できた様な抗腫瘍免疫が患者体内に安全に誘導できるか否かに関しては未知数であることから、新しい免疫遺伝子治療臨床研究を第 I-II 相研究として行っていく必要がある。但し、理論的に本方法は全ての種類の腫瘍患者に対しても用い得る汎用性の高い方法である為、本方法を用いた臨床研究に早期に移行し、その療法の可能性を検討していくことが、現段階での妥当な選択であると考えられる。</p>
研究成果の公表状況	<p>(関連研究結果の公表状況)</p> <ol style="list-style-type: none"> 1 第1回外科遺伝子治療研究会、平成11年3月25日(福岡)、<u>谷 憲三朗</u> 「腎癌の遺伝子治療」 2 第25回日本医学会総会、ランチョンセミナー、平成11年4月3日(東京) <u>谷 憲三朗</u> 「悪性腫瘍に対する遺伝子治療の現状」 3 <u>谷 憲三朗</u>他「腎がんに対する免疫遺伝子治療」第87回日本泌尿器科学会総会、シンポジウム4、平成11年4月14日(大阪) 4 The Japan Society of Gene Therapy, 5th Annual Meeting、平成11年6月19日(東京) K.Tani et al. "Clinical Studies of Immunogene Therapy Using GVAX Autologous GM-CSF Transduced Tumor Vaccines for Stage IV Renal Cell Cancer. 5 日本ヒト細胞学会、シンポジウムI、平成11年8月26日(鹿児島) <u>谷 憲三朗</u>他「腎癌に対する免疫遺伝子治療：実施までの経緯と現状報告」 6 日本がん治療学会、特別ワークショップ、平成11年10月14日(岐阜) <u>谷 憲三朗</u>他、「腎癌に対する遺伝子治療」 7 日本遺伝子診療学会主催、市民向けフォーラム、遺伝子診断と治療の今—21世紀の主役になれるか?—、<u>谷 憲三朗</u>、遺伝子治療：現実化への道のり、平成11年11月6日(東京) 8 Kawai, K., <u>Tani, K.</u>, Asano, S. and Akaza, H. Gene-modified immunotherapy for renal cell carcinoma. Contrib Nephrol 128: 75-81, 1999. 9 <u>Tani, K.</u>, Nakazaki, Y., Hase, H., Takahashi, K., Azuma, M., Ohata, J., Oiwa, M., Kitamura, R., Masunaga, A., Maekawa, T., Satoh, N., Adachi, D., Soda, Y., Watari, K., Tojo, A., Yamashita, N., Yoshikawa, H., Tomikawa, S., Eriguchi, M., Wakumoto, Y., Hanazawa, K., Shuin, T., Kawai, K., Hamada, H., Okumura, K., Akaza, H., Fujime, M., Clift, S., Ando, D., Sherwin, S., Mulligan, R., and Asano, S. Progress reports on immune gene therapy for stage IV renal cell carcinoma using lethally irradiated GM-CSF transduced autologous renal cancer cells. Cancer Chemother Pharmacol 46 (Suppl) S73-S76, 2000 10 Hase, H., <u>Tani, K.</u>, Nagayama, H., Watari, K., Takahashi, S., Ooi, J., Shirafuji,

N., Izeki, T., Nakazaki, Y., Yamashita, T., Nakamura, T., Masunaga, A., Maekawa, T., Tojo, A. and Asano, S. . Case Report: The availability of TCR-V β repertoires analysis with RT-PCR methods for the early detection of pulmonary relapsed T-cell malignancy after the autologous stem cell transplantation. *Am J Hematol* 64: 124-127, 2000

11 Tani, K., Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S., et al. Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer. *Molecular Therapy* 1: S259, 2000.

12 American Society of Gene Therapy: The 3rd Annual Meeting: June 3, 2000. Denver, Colorado Tani, K., Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S. et al., Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer.

13 The Japan Society of Gene Therapy: The 6th Annual Meeting: July 27, 2000. Tokyo Tani, K., Nakazaki, Y., Hase, H., Asano, S. et al., Clinical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for stage IV renal cell cancer: Three cases report.

14 谷憲三朗、東條有伸、山下直秀、増永敦子、佐藤典治、江里口正純、富川伸二、花澤喜三郎、濱田洋文、垣添忠生、藤目真、赤座英之、浅野茂隆。GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞を用いた抗腫瘍免疫療法の解析：第 59 回日本癌学会総会 10 月, 2000.

15 Wang, Z., Sumimoto, H., Tani, K., Kang, X., Nakazaki, Y., Asano, S. IL-12 synergizes with B7-1 enhance the antitumor immunity in C57BL/6 mice. *Int J Mod Cancer Therapy* 3: 51-53, 2000

16 Tani K., Nakazaki Y., Hase H., Takahashi K., Monna M., Soda Y., Kitamura R., Machida U., Ohata J., Watari K., Oyaizu N., Satoh N., Tojo A., Yamashita N., Maekawa T., Eriguchi M., Tomikawa S., Hanazawa K., Wakumoto Y., Akaza H., Fujime M., Kakizoe T., Mulligan R., Clift S., Ando D., Sherwin S., Asano S. Case reports on clinical studies of immunogene therapy using autologous. *Molecular Therapy* 3(5):S76, 2001. American Society of Gene Therapy. May, 2001, Seattle, Washington.

17 Tani K., Nakazaki Y., Hase H., Takahashi K., Monna M., Komine F., Kitamura R., Machida U., Ohata J., Soda Y., Watari K., Oyaizu N., Satoh N., Tojo A., Yamashita N., Maekawa T., Eriguchi M., Tomikawa S., Hanazawa K., Wakumoto Y., Kawai K., Azuma M., Kamada H., Okumura K., Kakizoe T., Akaza H., Fujime M., Mulligan R., Clift S., Ando D., Sherwin S., Asano S. Clonical studies of immunogene therapy using autologous GM-CSF transduced tumor vaccines (GVAX) for IV renal cell cancer: progress report. The JAPAN Society of gene Therapy, The 7th Annual Meeting, July 5, 2001, Tokyo.

18 谷 憲三朗、中崎有恒、東條有伸、小柳津直樹、富川伸二、和久本芳彰、河合弘二、東みゆき、垣添忠生、藤目真、赤座英之、浅野 茂隆。GM-CSF 遺伝子導入自家がん細胞を用いた免疫遺伝子治療臨床研究経過報告 第 60 回日本癌学会総会 10 月. 2001 (横浜)

19 Kawai K. Tani K. Yamashita N. Tomikawa S. Eriguchi M. Fujime M. Okumura K. Kakizoe T. Clift S. Ando D. Mulligan R. Yamauchi A. Noguchi M. Asano S. Akaza H. (2002) Advanced renal cell carcinoma treated with granulocyte-macrophage colony-stimulating factor gene therapy: a clinical

course of the first Japanese experience. *International Journal of Urology*. 9(8):462-6

20 Tani, K. Immunotherapy using GM-CSF gene for metastatic renal cell cancer. *International Symposium: Cancer Gene Therapy*. 213-223, 2002 (Eds)

21 Kawai, K., Tani, K., Yamashita, N., Tomikawa, S., Eriguchi, M., Fujime, M., Okumura, K., Kakizoe, T., Clift, S., Ando, D., Mulligan, R., Yamauchi, A., Noguchi, M., Asano, S., Akaza, H. Advanced renal cell carcinoma treated with granulocytemacrophage colony-stimulating factor gene therapy: A clinical course of the first Japanese experience, *Int. Journal of Urology*, 9:462-466, 2002

22 谷憲三朗、中崎有恒、長谷英徳、高橋圭介、曾田泰、大岩真希、前川平、東條有伸、山下直秀、佐藤典治、江里口正純、富川伸二、小柳津直樹、和久本芳彰、花澤喜三郎、河合弘二、東みゆき、濱田洋文、垣添忠生、奥村康、藤目真、赤座英之、Shirley Clift, Dale Ando, Stephan Shirwin, Richard Mulligan, 浅野茂隆 第IV期腎癌に対する免疫遺伝子治療臨床研究結果報告 日本泌尿器科学会、東京(2002.2.17)

23 Tani, K., Azuma, M., Nakazaki, Y., Oyaizu, N., Hase, H., Ohata, J., Takahashi, K., Oiwa Monna, M., Hanazawa, K., Wakumoto, Y., Kawai, K., Noguchi, M., Soda, Y., Kunisaki, R., Watari, K., Takahashi, S., Machida, U., Satoh, N., Tojo, A., Maekawa, T., Eriguchi, M., Tomikawa, S., Inoue, Y., Tahara, H., Inoue, Y., Yoshikawa, H., Yamada, Y., Iwamoto, A., Hamada, H., Yamashita, N., Okumura, K., Kakizoe, T., Akaza, H., Fujime, M., Clift, S., Ando, D., Mulligan, R., Asano, S. Phase I study of autologous tumor vaccines transduced with the GM-CSF gene in four patients with stage IV renal cell cancer in Japan. *Clinical and Immunological Findings. Mol Ther*. 10: 799-816, 2004.

24 谷憲三朗、橋口隆生、中崎有恒、東みゆき、浅野茂隆、GM-CSF 遺伝子導入自家腎癌細胞接種患者において誘導された腎癌細胞に対する抗腫瘍免疫の検討、第 63 回日本癌学会総会シンポジウム 30、福岡(2004.9.30)

25 Hashiguchi, T., Nakazaki, Y., Clift, S., Ando, D., Asano, S., Tani, K. Detection of enhanced serum antibody production to renal cell cancer proteins and identification of serological tumor antigens in patients treated with the GM-CSF gene transduced-autologous tumor vaccines. *Mol. Ther* 9:S 220, 2004.

26 Nakazaki, Y., Hase, H., Inoue, H., Beppu, Y., Meng Xin K., Sakaguchi, G., Ryo Kurita, R., Asano, S., Nakamura, Y., Tani, K. Serial analysis of gene expression in progressing and regressing mouse tumors implicates the involvement of RANTES and TARC in antitumor immune responses. *Mol Ther* 14: 599-606, 2006

27 Moon Y, Cho SG, Lee JW, Min WS, Kim CC, Lee HK, Kim YG, Chang HS, Chae HS, Kim HY, Tani K., Protective effect of irradiated renal carcinoma expressing hepatitis B surface antigen against renal-cell carcinoma-mediated tumors. *Cancer Biother Radiopharm*. 21:211-216, 2006.

28 Inoue, H., Iga, H., Nabeta, H., Yokoo, T., Suehiro, Y., Okano, S., Inoue, M., Kinoh, H., Katagiri, H., Takayama, K., Yonemitsu, Y., Hasegawa, M., Nakamura, Y., Nakanishi, Y., Tani, K. Non-transmissible SeV encoding GM-CSF is a novel and potent vector system to produce autologous tumor vaccines. *Cancer Science* 2008 (in press)

(申請中特許)

1. 発明の名称：遺伝子治療用ウイルスベクター

出願日：2008年4月25日（優先日：2007年4月27日）

発明者：谷 憲三朗他