

14-16 膵がんの特性に基づいた診断・治療法開発に関する研究

主任研究者 国立がんセンター 青木 一教

研究成果の要旨

マイクロアレイを用いて、膵がん細胞の塩酸ゲムシタピン感受性には BNIP3 遺伝子が関与していることを明らかとし、薬剤耐性機構における重要な因子である可能性を示した。新規治療法の基礎開発としては、インターフェロン α 遺伝子導入が、膵がん細胞に細胞死を誘導するとともに細胞障害性 T 細胞や NK 細胞を介した免疫学的機序により強力な抗腫瘍効果を引き起こすこと、p53 経路あるいは Rb 経路の異常を標的とする制限増殖型アデノウイルスと塩酸ゲムシタピンの併用が相乗的な抗腫瘍効果をもたらすこと、CEA 発現により制御される制限増殖型アデノウイルスが CEA 産生膵がんにおいて著明な抗腫瘍効果を引き起こすこと、PEDF を発現するレンチウイルスベクターを用いて血管新生を抑制することにより膵がんの遠隔転移を制御できること、COX-2 を阻害することにより膵がんの浸潤・転移を抑制できること、を明らかとした。また、新規ベクターとして、キャプシド蛋白質にランダムな挿入アミノ酸配列を有するアデノウイルス・ライブラリーを作製し、膵がんを標的とするアデノウイルスベクターを探索するシステムを開発している。

研究者名および所属施設

研究者名	所属施設および職名	分担研究課題
青木 一教	国立がんセンター研究所 室長	サイトカインを用いた膵がんに対する遺伝子治療法の開発
内田 英二	日本医科大学 助教授	動物モデルを用いた膵がんの治療実験
砂村 真琴	東北大学大学院医学系研究科 講師	制限増殖型アデノウイルスと塩酸 Gemcitabine を併用した膵がんに対する遺伝子治療
佐々木 勝則	東京大学医科学研究所 特任助教授	膵がんの治療を目指した Ras 依存性制限増殖型アデノウイルスベクターの開発
宮本 正樹	北海道大学大学院医学系研究科 助手	膵がんの遺伝子解析とそれを応用した特異的遺伝子治療の開発
上野 秀樹	国立がんセンター中央病院 医員	放射線化学療法を受けた局所進行膵がん患者の予後の検討
柏崎 正樹	大阪医療センター 医員	膵がんの特性に基づいた診断・治療法開発に関する研究

総括研究報告

1 研究目的

膵がんは消化器がんの中でも最も予後不良ながんである。早期発見は未だ困難であり、進行膵がんに対する既

存の治療法の効果は限られている。その最大の原因は、膵がんが高い浸潤・転移能を有することにある。したがって、診断においても治療においても膵がんを体内で広く標的とする戦略の開発が重要である。また局所進行膵が

んにおいても、十分な局所の制御と、病態の進展に伴って出現する転移への対策が求められている。当研究の目的は、1) ヒト臨床検体等を用いて、膵がんの特性を分子生物学的に解析して、膵がんの診療に有用な新たな標的分子を探索し、2) 同定された新規分子を標的として、あるいは既に進行している研究成果に基づいて、膵がんに対する有効な遺伝子治療法の開発を行うことである。

2 研究成果

2.1 膵がん診療に有用な新たな標的の探索

塩酸ゲムシタピン(以下、ゲムシタピン)は膵がんの化学療法における第一選択薬となりつつあるが、患者間での治療効果に差があり、その一因としてゲムシタピンに対する感受性が異なっていることが挙げられる。そこで、ゲムシタピン感受性を遺伝子発現情報から予測することを目的に、膵がん細胞株 19 種のゲムシタピンに対する感受性を MTT アッセイにて比較し、感受性群、耐性群および中間群に分類した。これらの細胞株より RNA を抽出し cDNA ライブラリーを作成するとともに、蛍光色素(Cy5)にて標識した。対照としてヒト膵管上皮細胞(HPDE)由来の cDNA を、異なる蛍光色素(Cy3)で標識し、これらを 9464 個のヒト由来遺伝子がスポットされた cDNA マイクロアレイ(Sanger Center, U.K.)上でハイブリダイゼーションした。遺伝子発現の差を、蛍光強度として Affymetrix 428 Scanner(Affymetrix, USA)を用いて計測し、得られた数値データを解析ソフトウェア(Genespring, Silicon Genetix, USA)にて解析したところ、ゲムシタピンに関する耐性群や感受性群のクラスタリングが可能となり、群ごとに膵がん細胞株で共通に高発現もしくは発現低下している遺伝子を抽出することができた。この中で、感受性群において高発現していた Adenovirus E1B-19K/BCL-2 interacting protein (BNIP3) 遺伝子に着目し、siRNA 法を用いて膵がん細胞株における BNIP3 の発現を阻害したところ、ゲムシタピンに対する感受性は有意に低下した。BNIP3 はアポトーシス抑制遺伝子 Bcl-2 と結合することでその働きを阻害すると考えられており、膵がんの薬剤耐性機構における重要な因子であると考えられた(砂村)。

2.2 膵がんに対する新規治療法の基礎開発

(1) インターフェロンは細胞増殖抑制や免疫賦活等の種々の生理作用を有する。我々は、以前より、アデノウイルスベクターを用いてインターフェロン α 遺伝子を膵がん細胞に導入すると、正常細胞や他のがん細胞と比較して、効率よく細胞増殖抑制や細胞死を誘導できること

を報告してきた。本年度は、インターフェロン α の種特異性を利用して、ヒト型とマウス型のインターフェロン α 発現アデノウイルスを使い分けることにより、ヌードマウスのヒト膵がん移植腫瘍モデルにおいて、インターフェロン α 遺伝子治療が直接的な細胞死誘導と、少なくともナチュラルキラー細胞を介した免疫学的反応の2つの機序により、遺伝子導入した腫瘍に対して明らかな抗腫瘍効果を引き起こすことを示した。しかし、ヌードマウスではナチュラルキラー細胞数が増加しているために、ナチュラルキラー細胞を介した抗腫瘍効果が実際のヒト臨床と比較して強調されている可能性がある。また、インターフェロン α の抗腫瘍免疫賦活には、ナチュラルキラー細胞とともに細胞障害性T細胞の活性化が重要な役割を果たしているが、本ヌードマウス移植腫瘍モデルでは、T細胞の抗腫瘍効果の検討は困難である。そこで、シリアンハムスターにハムスター膵がん細胞(PGHAM-1)を皮下移植した同系の膵がんモデルを作成し、腫瘍内にハムスター型のインターフェロン α を発現するアデノウイルスベクターを注入して、その抗腫瘍効果について検討した。本モデルでは、インターフェロン α 遺伝子導入の直接的細胞死誘導効果と細胞障害性T細胞やナチュラルキラー細胞を介した免疫学的抗腫瘍効果の複合的な抗腫瘍効果を検討することができる。コントロールのアデノウイルスベクターを投与した場合と比べて、ハムスター型インターフェロン α を遺伝子導入した場合には、皮下腫瘍の増殖は著明に抑制され、生存率に明らかな差が認められた。また、脾臓よりリンパ球を抽出し、*in vitro*での細胞障害アッセイを行ったところ、PGHAM-1細胞に対する特異的な細胞障害性T細胞が誘導されていることが明らかとなった。実際の臨床病態に類似した膵がん動物モデルにおいて、インターフェロン α 遺伝子局注が、強力な抗腫瘍効果を引き起こすことは、本治療法が膵がんの局所療法として有望な治療戦略であることを示している(青木)。

(2) 近年、新たながん治療の戦略として、制限増殖型アデノウイルスを用いた遺伝子治療が注目されている。制限増殖型アデノウイルス AxdAdB-3 は、E1A と E1B 双方に変異を持ち、d11520 (E1B55k 欠失アデノウイルス)や d1922-947 (E1A 変異アデノウイルス)を上回る腫瘍選択性と高い抗腫瘍効果が得られる。AxdAdB-3 に感染した膵がん細胞は、24 時間後には S 期の増加を認め、48 時間後には細胞内のウイルスの増殖と細胞破壊が始まる。ウイルス増殖が活発に行われているタイミングに S 期に作用

するゲムシタピンを投与することで、細胞内におけるウイルス増殖による細胞死に加えて、ゲムシタピンによるDNA合成阻害という作用により、より効率よく細胞を死滅させる可能性がある。AxdAdB-3は、ゲムシタピン感受性の比較的lowかったAsPC-1やPANC-1、およびゲムシタピン感受性の比較的高かったPK-45pにおいて強い殺細胞効果を示した。しかし、p16に変異のない細胞株であるPK-59は、AxdAdB-3に対する感受性が低く、Rb経路が正常で細胞周期が正常に近い細胞ではウイルスの増殖が抑制される可能性が示された。AxdAdB-3感染から48時間後にゲムシタピンを72時間曝露させると、AsPC-1では、併用群はAxdAdB-3単独群の1.6倍、ゲムシタピン単独群の2.9倍の殺細胞効果を認め、さらに、AxdAdB-3に感受性の低いPK-59においても、併用群はAxdAdB-3単独群の2.8倍、ゲムシタピン単独群の3.4倍の相乗的殺細胞効果を認めた。AsPC-1皮下腫瘍モデルにおいて、AxdAdB-3腫瘍局注群およびゲムシタピン腹腔内投与群は、それぞれ高い抗腫瘍効果を示した。さらに、AxdAdB-3腫瘍局注とゲムシタピン腹腔内投与併用群は、単独群に比べて有意に強い抗腫瘍効果を示し、早期より遠隔転移を起こす膵がんにおいては、併用療法が有用な治療戦略となりうるものと考えられた(砂村)。

(3) 膵がんの特性の一つであるCEA蛋白質の高発現に着目し、CEA産生腫瘍において特異的に増殖するアデノウイルスAdCEAp/Repを作製した。AdCEAp/Repは、CEAプロモーターによりE1A13Sを制御し、CMVプロモーターによりE1B19Kの発現を誘導し、かつ正常細胞の保護を目的にE1B55Kを欠失させて、CEA産生腫瘍特異的な増殖を可能としたものである。CEA産生膵がん細胞株BxPC-3の*in vitro*培養で、AdCEAp/Repを添加したところ、ウイルスの感染多重度(MOI)の増加に依存して細胞増殖抑制効果が認められた。一方、CEA非産生肝がん細胞株PLC/PRF/5に対しては細胞障害活性を示さなかった。次に*in vivo*腹膜播種モデルとしてBxPC-3細胞をマウスの腹腔内に注入し、 10^9 pfuのAdCEAp/Repを5日間連続して腹腔内投与した後、腹膜播種マウスの生存曲線を比較したところ、PBS投与群やAdCEAp/n*LacZ*(増殖不能アデノウイルス)投与群に比べて、AdCEAp/Rep投与群では有意にマウスの生存期間が延長した。さらにAdCEAp/n*LacZ*投与群で観察された血清腹水は、AdCEAp/Rep投与群では見られなかった。CEAプロモーターにより制御される自立増殖型アデノウイルスを開発し、CEA産生膵がんに対して明確な抗腫瘍効果を示すことができた(佐々木)。

(4) アデノウイルスが感染した細胞内では、

dsRNA-activated protein kinase (PKR)の活性が上昇し、ウイルスに対する排除機構が働く。しかし、アデノウイルスゲノムから転写されるsmall RNAの1種であるVAIは、PKRを不活性化し、その結果、感染したアデノウイルスは宿主のウイルス排除機構から逃れることができる。一方、Ras下流のエフェクターは、PKR活性化を抑制することが知られている。従って、VAIに変異を持ちその機能を欠失したアデノウイルスは、Ras依存性に増殖するようになる。そこで、膵がんではRas活性化が高頻度に認められることに着目し、膵がん細胞を標的する目的で、VAI変異型アデノウイルスを構築した。今後は、このVAI変異型アデノウイルスの膵がんに対する抗腫瘍効果について、rasやPKR遺伝子との関連に注目しながら解析する予定である(佐々木)。

(5) PEDF (Pigment epithelium-derived factor)は強力な血管新生阻害物質であり、近年、PEDFが正常膵組織の過剰な増殖を抑制していることが示された。昨年度、膵がん切除検体を用いてPEDFの発現を検討したところ、この遺伝子の発現低下が膵がん症例の予後と関連していることが明らかとなり、PEDFが膵がんの生物学的悪性度と関連している可能性がある。そこで、PEDFを用いて血管新生を阻害して膵がんの浸潤・転移を抑制することを目指した遺伝子治療の基礎研究を行った。まず、PEDF-GFP発現レンチウイルス(Lenti-PEDF)およびコントロールベクターとしてGFP発現レンチウイルス(Lenti-GFP)を構築した。これらを感染させて作製したPEDF産生膵がん細胞株(PCI24-pおよびPCI43p5-p)より得られた上清は、HUVEC(ヒト臍帯静脈内皮細胞)の増殖を抑制し、その遊走能も有意に減少させた。一方で、膵がん細胞株の増殖には影響しなかった。また、Lenti-PEDF感染細胞株(PCI24、PCI43p5)はいずれもコントロール(Lenti-GFP感染株)と比較して、ヌードマウスにおける造腫瘍性は明らかに低下していた。さらに、PEDF発現株を、マウスの腹腔内に注入すると、腹膜播種巣の数は有意に減少した。現在、マウス移植モデルにおいて、腫瘍形成後にレンチウイルスを投与して腫瘍の増殖が抑制されるかどうか確認している。PEDFは、膵がんの血管新生を阻害し腫瘍の増殖を抑制する治療遺伝子として有用であると考えられた(宮本)。

(6) 樹状細胞は強力な抗原提示細胞であり、細胞性免疫の中心的役割を担っている。そこで、膵がんの病態の中でも最も治療困難と考えられる腹膜播種に対して、樹状細胞を用いた免疫治療の基礎開発研究を行った。ハムスター骨髄由来樹状細胞(DC)は、採取した骨髄細胞を

mGM-CSF と mIL-4 の存在下に培養し、DC が豊富な細胞集団を集めたもので、それに PGHAM-1 細胞溶解液をパルスした (DC+lysate)。PGHAM-1 細胞 2×10^6 個を 4 週齢雌性シリアンハムスターの腹腔内に移植後、 1×10^7 個の DC、 1×10^7 個の DC+lysate、PBS をそれぞれ 1 週間ごとに 3 回腹腔内に注入した。24 日目に屠殺剖検したところ、腫瘍重量、腫瘍結節数および腹水量は、DC 群と DC+lysate 群では、PBS 群と比べて減少していた。さらに、腫瘍結節や腹水量に関しては、DC+lysate 群は DC 群よりも有意に減少していた。平均生存期間は DC 群 35.0 日、DC+lysate 群 48.8 日であり、PBS 群 25.0 日と比べて有意に延長していた。本研究により、樹状細胞を用いた膵がんに対する免疫療法の抗腫瘍効果を確かめることができた(内田)。

(7) COX-2 は、サイトカインなどの刺激により、マクロファージ、線維芽細胞、血管内皮細胞やがん細胞において発現が誘導され、炎症反応・血管新生・アポトーシスや発がん過程に密接に関与している。ヒト膵がんや膵管内乳頭粘液腫瘍においても COX-2 が高率に発現しており、膵腫瘍の発生・進展に深く関連していると考えられている。N-nitrosobis(2-oxopropyl) amine (BOP) 誘発によるハムスター膵がん細胞株 PGHAM-1 は、高浸潤能・高転移能を持つうえ、K-ras 遺伝子の codon12 の点突然変異、血管内皮増殖因子 (VEGF) や matrix metalloproteinase (MMP)-2, 9 の発現といったヒト膵がんと類似した細胞生物学的特性を有している。PGHAM-1 細胞における COX-2 の局在を免疫組織染色にて検討したところ、細胞膜および細胞質に COX-2 の発現が認められた。また、*in vivo* の実験として、4 週齢の雌性シリアンハムスターに PGHAM-1 細胞 5×10^6 個を同種膵内移植した。3 週後に屠殺剖検して、膵腫瘍や肝転移巣を免疫組織学的に検討すると、特に腫瘍先進部に強く COX-2 の発現が認められ、PGHAM-1 細胞はヒト膵がんと同様に COX-2 を発現していることが確かめられた。この PGHAM-1 細胞を用いて、選択的な COX-2 阻害剤である Nimesulide の効果を検討したところ、PGHAM-1 細胞の増殖は Nimesulide $100 \mu\text{g/ml}$ 未満で濃度依存性に弱い増殖抑制効果がみられ、 $100 \mu\text{g/ml}$ 以上で有意に増殖が抑制された。また、 ^3H -チミジン取り込みは Nimesulide $100 \mu\text{g/ml}$ 以上で有意 ($p=0.001$) に低下した。さらに、Nimesulide $100 \mu\text{g/ml}$ で、浸潤細胞の明らかな減少を認め ($p=0.003$)、Nimesulide が膵がんの増殖や細胞浸潤の抑制に有用であると考えられた(内田)。

(8) これまでに、膵がんでは COX-2 の高発現例が多いこと、及び COX-2 高発現例は低発現例より予後不良である

ことを報告してきた。今回は、COX-2 阻害剤(JTE-522)の膵がん細胞株に対する作用を *in vitro* で検討した。JTE-522 は、COX-2 発現株と非発現株双方に対して濃度依存的な増殖抑制効果を示した。一方、浸潤能、運動性や細胞外基質に対する接着能に関しては、JTE-522 は、COX-2 発現株に対して抑制効果を示したが、COX-2 非発現株に対しては影響を与えなかった。また、COX-2 発現株 KMP-4 では、MMP-9 や MMP-2 のプロフォームの構成的な分泌が認められるが、JTE-522 によりこれらの分泌は濃度依存的に抑制された。また、コンカナバリン A により MMP-9 の発現増強と活性型 MMP-2 の誘導が認められるが、JTE-522 によりこの発現増強と活性型の誘導は抑制された。これらの検討により、COX-2 阻害剤 JTE-522 は、膵がんの増殖、浸潤・転移を抑制する治療法として有望であることが示唆された(柏崎)。

(9) 当院で放射線化学療法を受けた局所進行膵がん患者の予後の検討では、生存期間中央値は 10.0 ヶ月であり、PS、膵周囲リンパ節腫脹、CA19-9 の 3 つが独立した予後因子であった。特に、PS が 2 以上の例や、膵周囲リンパ節腫脹を認め CA19-9 が $1,000\text{U/mL}$ 以上と高値の例は、治療後早期より遠隔転移をきたすことから予後が不良(生存期間中央値 4.7 ヶ月)であり、遺伝子治療を含めたより優れた局所制御の治療戦略と、転移を抑制する全身性の有効な治療法の開発が必要と考えられる。進行膵がんに対する全身性の化学療法としては、5-FU を中心とした化学療法が試みられてきたが、近年、ゲムシタビンが 5-FU よりも進行膵がん患者の予後を改善することが比較試験の結果明らかにされた(1 年生存率:ゲムシタビン群 18% vs. 5-FU 群 2% $P=0.0025$)。さらに、ゲムシタビン+5-FU 併用療法の方がゲムシタビン単独療法よりも median time to progression が有意に優れていたことが報告されている。S-1 は、5-FU のプロドラッグであるテガフルにギメラシルとオテラシルカリウムを配合した経口の抗癌剤であり、5-FU の血中濃度を高めて抗腫瘍効果を増強すること、および消化管毒性を軽減することを目的として開発された。S-1 の効果は膵がんでも注目されており、前期第 I 相試験では 21% (4/19) の奏効率が報告されている。そこで今回、より有効な全身性の化学療法を開発する目的で、進行膵がんを対象としたゲムシタビンと S-1 の併用化学療法の臨床試験を行った。18 例の進行膵がん患者が登録され、男性が 13 例、女性 5 例で、年齢の中央値は 61 歳であった。レベル 4 に登録された 6 例は、蓄積毒性が認められず安全に投与が実施されたことから、レベル 4 を本試験方法の推奨用量に決定

した。主な副作用は、白血球減少、好中球減少、食欲不振、悪心、皮疹などであり、多くは一過性で外来治療が可能であった。また、第 I 相試験ではあるが、18 例中 PR が 6 例（奏効率 33%）と良好な抗腫瘍効果が認められ、ゲムシタビンと S-1 の併用療法は進行膵がん患者に対し、高い安全性と良好な抗腫瘍効果を示した。今回の試験の結果に基づき、レベル 4（ゲムシタビン 1000mg/m²、S-1 80mg/m²）を投与方法に採用した第 II 相試験を、現在多施設共同で実施している（上野）。

2.3 遺伝子治療に有用なベクターの開発

アデノウイルスのキャプシド蛋白質を遺伝子工学的に改変することにより、細胞・組織特異的に感染する標的アデノウイルスベクターの開発が可能と考えられている。しかし、現在までのところ、インテグリン分子群等のあらかじめ特定された細胞表面分子を標的するベクターの構築に留まっている。そこで、キャプシド蛋白質にランダムな挿入アミノ酸配列を有するアデノウイルス・ライブラリーを作製し、標的目標となるがん細胞の特性に応じたアデノウイルスベクターを体系的に探索・開発するシステムを開発している。2 x 10⁶程度の多様性を有するキャプシド蛋白質改変アデノウイルス・ライブラリーを用いて、AsPC-1膵がん細胞をスクリーニングしたところ、3回のウイルス感染・回収により、特定のアミノ酸配列を有するアデノウイルスが、2-3種類にまで濃縮された。現在、得られたウイルスの感染特異性について検討している。本スクリーニング法は、膵がん細胞特異的に感染するアデノウイルスベクターを直接同定する上で有用である可能性が示された（青木）。

3 倫理面への配慮

動物実験に関しては、各研究機関の動物実験倫理規定に基づいて実験を行っている。ヒト臨床検体の研究への応用に当たっては、各研究者の所属する施設の倫理委員会の審査・機関長の承認のもと本研究を進めている。

研究成果の刊行発表

外国語論文

- Hatanaka, K., Aoki, K., et al., Interfeon α and antisense K-*ras* combination gene therapy against pancreatic cancer. *J. Gene Med.*, 6:1139-1148, 2004.
- Yamane, A., Aoki, K., et al., Differential ability of polymorphic OGG1 proteins to suppress mutagenesis induced by 8-hydroxyguanine in human cell *in vivo*.

Carcinogenesis, 25:1689-1694, 2004.

- Yoshida, T., Aoki, K., et al., Development of gene therapy to target pancreatic cancer. *Cancer Sci.*, 95:283-289, 2004.
- Okusaka, T., Aoki, K., et al., New approach for pancreatic cancer in Japan. *Cancer Chemothep Pharmacol*, 54 (Suppl 1):S78-82, 2004.
- Miura, Y., Aoki, K., et al., Intraperitoneal injection of adenovirus expressing antisense K-*ras* RNA suppresses peritoneal dissemination of hamster syngeneic pancreatic cancer without systemic toxicity. *Cancer Lett.*, 218:53-62, 2005.
- Aoki, K., et al. Suppression of pancreatic and colon cancer cells by antisense K-*ras* RNA expression vectors. In: *Antisense Therapeutics*, 2nd edition, Humana Press, 2004.
- Takigawa, T., Uchida, E., et al., Antitumor effect induced by dendritic cell (DC)-based immunotherapy against peritoneal dissemination of the hamster pancreatic cancer. *Cancer Lett.*, 215:179-186, 2004.
- Noro, T., Uchida, E., et al., Adeno-associated viral vector-mediated expression on endostatin inhibits tumor growth and metastasis in an orthotropic pancreatic cancer model in hamsters. *Cancer Res.*, 64:7486-7490, 2004.
- Fukuhara, M., Uchida, E., et al. Reexpression of reduced VEGF activity in liver metastasis of experimental pancreatic cancer. *J. Nippon Med. Sch.*, (in press)
- Sunamura, M., et al., Oncolytic virotherapy as a novel strategy for pancreatic cancer. *Pancreas*, 28:326-329, 2004.
- Sunamura, M., et al., Phase III trial of radiosensitizer PR-350 combined with intra-operative radiotherapy for the treatment of locally-advanced pancreatic cancer. *Pancreas*, 28:330-334, 2004.
- Sunamura, M., et al., The role of chromosome 18 abnormalities in the progression of pancreatic adenocarcinoma. *Pancreas*, 28:311-316, 2004.
- Suzuki, Y., Sunamura, M., et al., Japanese multiinstitutional study of intraductal papillary mucinous tumor and mucinous cystic tumor. *Cystic neoplasm of the pancreas: a Japanese multiinstitutional study of intraductal papillary*

- mucinous tumor and mucinous cystic tumor. *Pancreas*, 28:241-246, 2004.
14. Egawa, S., Sunamura, M., et al., Clinicopathological aspects of small pancreatic cancer. *Pancreas*, 28:235-240, 2004.
15. Matsuno, S., Sunamura, M., et al., Pancreatic cancer registry in Japan: 20 years of experience. *Pancreas*, 28:219-230, 2004.
16. Lefter, L.P., Sunamura, M., et al., Functional analysis of chromosome 18 in pancreatic cancer: strong evidences for the new tumor suppressor genes. *Asian. J. Surg.*, 27:85-92, 2004.
17. Imamura, M., Sunamura, M., et al., A randomized multicenter trial comparing surgery and radiochemotherapy for respectable locally invasive pancreatic cancer. *Surgery*, 136:1003-1011, 2004.
18. Yamanaka, S., Sunamura, M., et al., Chromosome 12, frequently deleted in human pancreatic cancer, may encode a tumor suppressor gene that suppresses angiogenesis. *Lab. Invest.*, 84:1339-1351, 2004.
19. Lefter, L., Sunamura, M., et al., Screening for functional tumor suppressor activity in pancreatic cancer. *Rom. J. Gastroenterol.*, 13:195-201, 2004.
20. Yatsuoka, T., Sunamura, M., et al., TU12B1-TY, a novel gene in the region at 12q22-q23.1 frequently deleted in pancreatic cancer, shows reduced expression in pancreatic cancer cells. *Oncol. Rep.*, 12:1263-1268, 2004.
20. Maemondo, M., Sasaki, K., et al., Gene therapy with secretory leukoprotease inhibitor promoter-controlled replication-competent adenovirus for non-small cell lung cancer. *Cancer Res.*, 64:4611-4620, 2004.
21. Uchida, H., Sasaki, K., et al., Adenovirus-mediated transfer of siRNA against survivin induced apoptosis and attenuated tumor cell growth *in vitro* and *in vivo*. *Mol. Ther.*, 10:162-171, 2004.
22. Sagawa, T., Sasaki, K., et al., Prolonged survival of mice with multiple liver metastases of human colon cancer by intravenous administration of replicable E1B-55K-deleted adenovirus with E1A expressed by CEA promoter. *Mol. Ther.*, 10:1043-1050, 2004.
23. Uehara, H., Miyamoto, M., et al., Expression of pigment epithelium-derived factor decreases liver metastasis and correlates with favorable prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer Res.*, 64:3533-3537, 2004.
24. Ueno, H., Okusaka, T., et al., Phase I study of hyperfractionated radiation therapy with protracted 5-fluorouracil infusion in patients with locally advanced pancreatic cancer. *Oncology*, 67:215-221, 2004.
25. Ueno, H., Okusaka, T., et al., A phase II study of S-1 in patients with advanced biliary tract cancer. *Br. J. Cancer*, 91:1769-1774, 2004.
26. Okusaka, T., Ueno, H., et al., Phase II study of radiotherapy combined with gemcitabine for locally advanced pancreatic cancer. *Br. J. Cancer*, 91:673-677, 2004.
27. Ueno, H., Okusaka, T., et al., An early phase II study of S-1 in patients with metastatic pancreatic cancer. *Oncology*, (in press)
- 日本語論文
1. 上野秀樹、奥坂拓志、他、膵癌に対する新しい化学療法、カレントセラピー、22:79-83, 2004.
2. 上野秀樹、池田公史、他、胆嚢癌に対する化学療法・放射線療法、コンセンサス癌治療、3:92-95, 2004.
3. 上野秀樹、池田公史、他、膵臓癌、胆道癌. 消化器がん治療の最近の動向と緩和医療の接点、緩和医療学、6:26-30, 2004.
4. 竹迫賀子、上野秀樹、他、膵癌・胆道癌. 臨床検査、診断に用いる腫瘍マーカー、癌と化学療法、31:1443-1446, 2004.
5. 上野秀樹、奥坂拓志、他、切除不能膵癌に対する化学療法・放射線療法、*Medical Practice*、22:305-310, 2005.