

XVI がんに対する遺伝子治療の現況と展望

藤原 俊義^{a,b*}, 田中 紀章^b

^a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,

^b岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器・腫瘍外科学

キーワード：遺伝子治療，アデノウイルスベクター，p53，テロメラーゼ

Current status and perspectives of gene therapy for cancer

Toshiyoshi Fujiwara^{a,b*}, Noriaki Tanaka^b

^aCenter for Gene and Cell Therapy, Okayama University Hospital, ^bDepartment of Gastroenterological Surgery, Transplant, and Surgical Oncology, Okayama University Graduate School of Medicine, Dentistry and Pharmaceutical Sciences

はじめに

近年、ゲノム情報の蓄積により新薬開発のプロセスは様変わりしてきた。特に、特定の分子の機能を阻害する分子標的医薬品の開発が活発に進められており、多くの新薬が臨床試験を経て市場展開を果たしている。「遺伝子治療」も機能遺伝子を標的細胞に導入するという意味では分子標的治療の一つであり、はじめてヒトに応用されてからすでに15年以上が経過している。米国国立衛生研究所(National Institute of Health: NIH)の組換えDNA諮問委員会(Recombinant DNA Advisory Committee: RAC)が実施を承認した臨床プロトコル数は2008年6月の時点で908となっており、なかでもがんに対する遺伝子治療は620プロトコルで68.3%に達している¹⁾。免疫機構の活性化を目指した方法がもっとも多く、がん細胞への自殺遺伝子の導入やがん関連遺伝子の発現制御により細胞死を誘導する方法、さらにはがん細胞で選択的に増殖する腫瘍融解ウイルスを用いた方法(oncolytic virotherapy)、造血細胞への薬剤耐性遺伝子の導入や移植するリンパ球への自殺遺伝子の導入で宿主の安全性を高める方法など様々な試みが進められている。本稿では、これらのがんの遺伝子治療の治療戦略を概説し、新しい試みとして岡山大学で開発した新規腫瘍融解ウイルス療法の臨床応用の状況も紹介する。

遺伝子導入のためのベクターシステム

1. レトロウイルスベクター

遺伝子を効率よく標的細胞に導入するためによく用いられているのが、非増殖性ウイルスベクターによる方法である。マウス白血病ウイルスを改変したレトロウイルスベクターが、標的細胞の染色体ゲノムに治療遺伝子を組み込み永続的な遺伝子発現を得るためには有用であり、遺伝性疾患の治療に多く使われている²⁾。しかし、挿入変異による白血病の発症などが問題となり³⁾、さらに安全性の高いベクター改変が求められている。また、導入効率を向上させた増殖可能なレトロウイルスベクター(replication-competent retrovirus: RCR)や神経細胞などの静止している細胞にも遺伝子導入可能なレンチウイルス由来のベクターも開発されてきている⁴⁾。

2. アデノウイルスベクター

幼児期のかぜ症状を引き起こすDNAウイルスであるアデノウイルス5型由来のアデノウイルスベクターは、高い感染効率や標的細胞の多様性から*in vivo*遺伝子治療に適しているとされている⁵⁾。第一世代のアデノウイルスベクターでは、多くのウイルスゲノムが残っていたためアデノウイルス由来の蛋白質に対する細胞性および液性免疫が問題となっていたが、最近開発された新世代のベクター(gutlessもしくはguttedベクター)では、ほとんどのウイルスゲノムが削除されており、免疫原性が低下するとともに大きな遺伝子挿入スペースが確保されている⁶⁾。

3. アデノ随伴ウイルスベクター

アデノ随伴ウイルス(adeno-associated virus: AAV)ベクターは、低い免疫原性や非病原性ウイルス

平成20年10月受理

*〒700-8558 岡山市鹿田町2-5-1

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

電話：086-235-7997 FAX：086-235-7884

E-mail: toshi_f@md.okayama-u.ac.jp

に由来することによる安全性などの点から注目されているベクターの一つである。AAV ベクターは静止細胞にも感染することが可能であり、神経系および筋肉組織の標的細胞のゲノムへの安定した遺伝子導入に有効と考えられている⁷⁾。

4. 非ウイルス系ベクター

非ウイルス系の遺伝子導入ベクターとしては、薬剤キャリアーとして開発されたナノ粒子やカチオニックリポソーム、ポリリジン-DNA-蛋白複合体、naked DNA などを用いた方法が開発されているが、導入効率や効果の持続性という点ではまだウイルス系ベクターのレベルに至っていない⁸⁾。ただ、ウイルス系と非ウイルス系のハイブリッドベクターとして開発されたHVJ-リポソームは、多くの遺伝子導入実験において高い導入効率と広範囲の標的組織が確認されており、その動物実験の成果から今後の臨床応用が期待される⁹⁾。

がんに対する宿主の免疫機構を活性化する遺伝子治療

1. 腫瘍ワクチン遺伝子治療

米国で進行中のがんに対する遺伝子治療の多くは、遺伝子操作を行ったがん細胞をワクチンとして接種して宿主の免疫機構を活性化することで抗腫瘍効果を期待する、いわゆる腫瘍ワクチン遺伝子治療である。患者から採取した自己のがん細胞 (autologous) あるいは同種 (allogeneic) のがん細胞株にサイトカイン遺伝子、免疫を活性化する炎症誘発性分子 (pro-inflammatory molecule)、強力な抗原性蛋白質遺伝子などを導入し、それらの遺伝子導入がん細胞を放射線や抗がん剤処理で不活化してワクチンとして担がん患者に接種する。Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor (GM-CSF) 遺伝子のがん細胞に導入した GVAX は、ホルモン抵抗性前立腺がんを対象にタキソテールとの有効性を比較する第Ⅲ相臨床試験 (VITAL-1) が進行中であり¹⁰⁾、さらに臓がん、白血病に対する第Ⅱ相臨床試験も行われている。2006年、同種前立腺がん細胞を用いた GVAX は米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) の迅速審査対象となっており、今後のデータ蓄積による臨床展開が期待される。

Bリンパ球の活性化抗原である B7-1, intercellular adhesion molecule 1 (ICAM-1), lymphocyte function-associated antigen 3 (LFA-3) の3分子を使用する

TRICOM ワクチンでは、初期ワクチンにワクシニアウイルスを使い、ブースターに鶏痘ウイルス (Fowlpox virus) を用いて、TRICOM とともに mucin-1 (Muc-1) と CEA を発現する PANVAC-VF レジメで、膵臓がんに対する第Ⅲ相臨床試験を終了している¹¹⁾。

2. サイトカイン遺伝子治療

サイトカイン遺伝子そのものを *in situ* でがん細胞に導入する方法も試みられており、interleukin 2 (IL-2) や interferon- γ (IFN- γ), より強力な免疫活性化能を持つ interleukin 12 (IL-12) 遺伝子などが用いられている¹²⁾。サイトカインを局所的に発現させ、その濃度依存性の全身的な毒性を軽減させる工夫であり、免疫原性の高いメラノーマや腎臓がんを対象としてヒトへの臨床応用が行われてきた。

サイトカインの一つである MDA-7 (IL-24) 遺伝子を発現するアデノウイルスベクター (INGN241) の腫瘍内投与は、頭頸部がんを対象に放射線併用での第Ⅲ相臨床試験が進行中であり、メラノーマと固形がんでは第Ⅱ相臨床試験が行われている。メラノーマに対する第Ⅰ相臨床試験では、22例で全身性の免疫活性の上昇と組織学的に腫瘍内でのアポトーシスの誘導が確認された¹³⁾。

TNFERade は、放射線感受性 Egr-1 プロモーターで tumor necrosis factor α (TNF- α) を発現する非増殖型アデノウイルスベクターである¹⁴⁾。TNFERade の腫瘍内投与と局所放射線治療の併用で、TNF の全身投与で認められる重篤な毒性を抑えつつ局所的に強力な抗腫瘍活性を得ることが可能となる。現在、切除不能膵臓がんに対して TNFERade の腫瘍内投与と5-FU の全身投与に放射線を併用するランダム化第Ⅱ/Ⅲ相比較臨床試験 (PACT study) が進行中であり、直腸がんと転移性メラノーマでは第Ⅱ相臨床試験が、また頭頸部がんに対しては第Ⅰ/Ⅱ相臨床試験が行われている。PACT study の中間報告では、標準治療の生存期間中央値が11ヵ月に対して TNFERade 併用で19ヵ月と延長が認められている。しかし、食道がんを対象とした第Ⅱ相臨床試験は、肺梗塞のリスクが有意に高まったとして中止となっている。

細胞死を誘導する治療遺伝子の導入による遺伝子治療

1. 自殺遺伝子によりプロドラッグを活性化する遺伝子治療

がん細胞に特異的に薬剤感受性を誘導できれば、正

常細胞に影響を与えず，選択的にがん細胞を破壊することが可能となる．単純ヘルペスウイルス由来のチミンキナーゼ (*HSV-tK*) 遺伝子を発現するがん細胞では，ヘルペス治療薬であるガンシクロビル (GCV) がリン酸化され，その代謝産物の毒性によりがん細胞は死に至る．悪性グリオーマや前立腺がん，悪性胸膜腫を対象に，*HSV-tK* 遺伝子発現アデノウイルスベクターを直接腫瘍内や胸腔内に投与する臨床試験も行われており，グリオーマに対する大規模第 I 相臨床試験では，生存期間中央値が39週から70.6週に延長したと報告されている¹⁵⁾．局所再発前立腺がんに対する第 I 相臨床試験は米国で行われており，18例に *HSV-tk* 遺伝子発現アデノウイルスベクターの腫瘍内投与と GCV の全身投与が行われ，3例で PSA 低下による臨床効果が認められた．しかし，ヨーロッパで行われた248例の悪性グリオーマに対する標準治療 (外科切除＋放射線) へのアジュバントとしての第 III 相臨床試験の結果では，その有効性は否定的であった．

2. *p53*がん抑制遺伝子を用いた遺伝子治療

1) 治療遺伝子としての *p53*

ヒト第17番染色体短腕上に存在するがん抑制遺伝子である *p53* 遺伝子は，約50%のヒト悪性腫瘍でその機能喪失が認められ，生体ストレスに対するゲノムの安定性の維持に重要な役割を果たしている．*p53* 蛋白質は，特定の塩基配列に結合する転写因子として多くの遺伝子群の発現を調節することで多様な生理機能を発揮している．すなわち，G1期，G2期チェックポイントとしての細胞周期制御，細胞の自殺経路であるアポトーシスの誘導，ゲノムの安定性を維持するための DNA 修復，あるいは血管新生抑制などである¹⁶⁾．正常なヒト *p53* 遺伝子を導入することで，多くのがん細胞でアポトーシス細胞死を惹起することができる．

2) *p53* 遺伝子発現アデノウイルスベクター

正常なヒト *p53* 遺伝子を発現するアデノウイルスベクター (Ad5CMV-*p53*, Advexin) は，ウイルス増殖に必要な *E1* 遺伝子領域を除去し，その部分にヒト由来の正常な *p53* cDNA を組み込んであるため，*E1* 遺伝子でトランスフォームした293細胞内でのみ増殖可能である (図1)．すなわち，標的であるがん細胞内で，投与されたウイルス濃度に応じた *p53* 遺伝子発現を誘導するが，理論的にはウイルス増殖がみられることはない．Advexin の感染により，様々なヒトがん細胞で高率にアポトーシスが誘導される¹⁷⁾．さらに，*p53*

は血管新生関連分子の発現を制御することで血管新生に抑制的に作用して¹⁸⁾，また CD95リガンドの発現増強を介して好中球の腫瘍局所への遊走を惹起し¹⁹⁾，これらの現象により *p53* 遺伝子導入されなかった周辺のがん細胞にも影響を与えることが確認されている．

3) *p53* 遺伝子を用いた遺伝子治療の臨床試験

(1) 非小細胞肺がん

岡山大学医学部附属病院を中心に，1999年3月から2003年7月まで多施設共同研究として非小細胞肺がんに対する Advexin による第 I 相臨床試験が行われた²⁰⁾．岡山大学で9例，東京医科大学で3例，東北大学加齢医学研究所で2例，東京慈恵会医科大学で1例，計15例の患者に63回の治療が施行されている．Advexin は，経気管支鏡的に，あるいは CT ガイド下穿刺により腫瘍内に局所注入された．ウイルスは段階的に増量し，また Advexin 単独局所投与する群と Advexin 局所投与とシスプラチンの全身投与を併用する群の2群が設定されていた．発熱以外に顕著な副作用はなく，本治療は安全に施行可能であると考えられる．評価可能であった13例の臨床効果は，PR (partial response) 1例，SD (stable disease) 10例 (3例は9ヶ月以上持続)，PD (progressive disease) 2例であり，1例の PR 症例と2例の SD 症例，計3例では，呼吸機能の改善，血痰の消失，肺活量の増加と咳症状の軽快などの QOL (quality of life) の改善や腫瘍マーカーの低下などの臨床的有用性が確認された．

米国テキサス大学 MD アンダーソンがんセンターでは，第 I 相臨床試験による安全性の確認の後，1998年4月から2000年5月まで高濃度の Advexin 局所投与と局所放射線療法を併用する第 II 相臨床試験が行われた²¹⁾．第1，18，32日目に Advexin を局所投与し，第4日目から2 Gy/日，5日/週，計60 Gyの放射線照射を行う．19例 (CT ガイド下投与：15例，気管支鏡下投与：4例) の非小細胞肺がん患者での結果は，CR (complete response) 1例 (5%)，PR 11例 (58%)，SD 3例 (16%)，PD 2例 (11%) であり，63%に50%以上の腫瘍縮小がみられた．また，治療3ヵ月後の生検では，12例 (63%) でがん細胞が認められなかった．生存率は1年40%，2年16%であった．第 II 相臨床試験で治療を受けた2症例で5年以上の生存が確認されており，その長期的な有用性も示唆された．

(2) 小細胞肺がん

樹状細胞はT細胞を抗原特異的に活性化することの

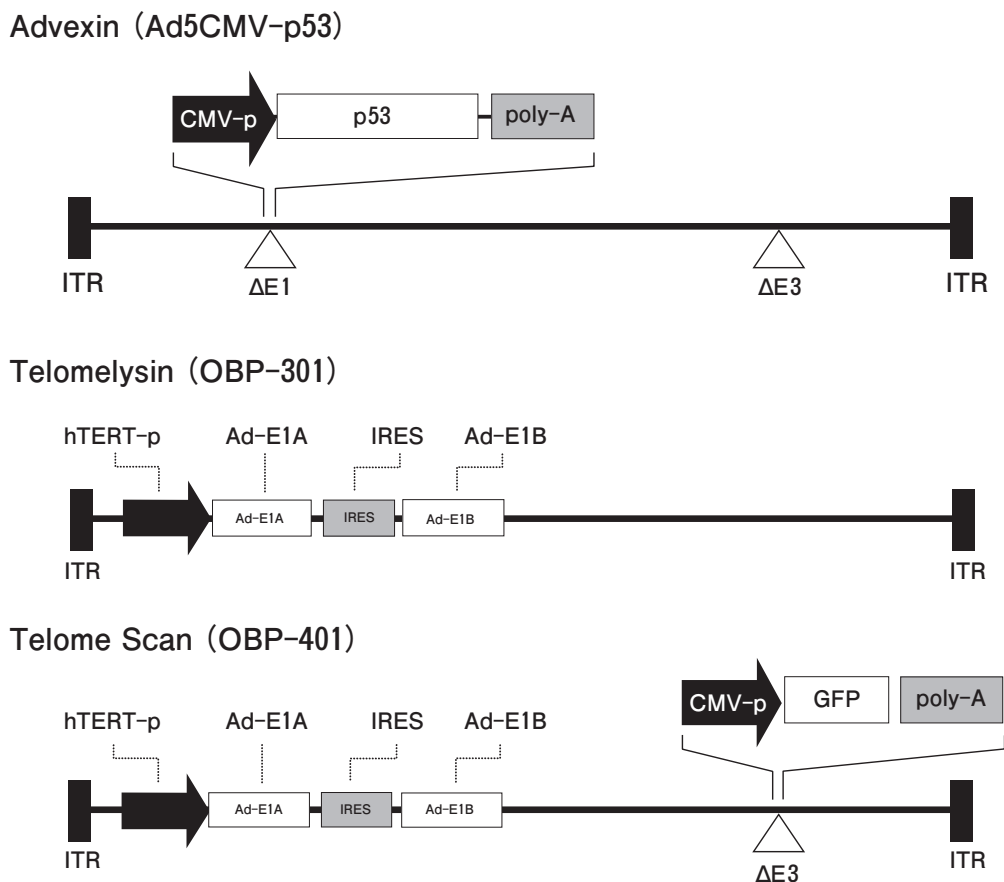


図1 アデノウイルスベクターの構造と概観

第一世代のアデノウイルスベクターでは、ウイルスの増殖に必要なE1とE3領域が除去されており、相同組み換えによりE1領域に治療遺伝子を含む発現カセットが挿入される。Advexin (Ad5CMV-p53)では、サイトメガロウイルス (CMV)・プロモーター、ヒト正常型 p53 cDNA, SV40 polyadenylation signal より成る p53遺伝子発現カセットが、アデノウイルス5型由来のベクターの欠損したE1部分に組み込んである。このベクターを、E1遺伝子を導入した293細胞に感染させることで、大量の治療用ベクターを産生、精製することができる。

Telomelysin (OBP-301)では、hTERT プロモーターと IRES 配列で結合した E1A, E1B 遺伝子より成る増殖カセットが、相同組み換えによりアデノウイルス5型由来のベクターの欠損したE1部分に組み込んである。また、TelomeScan (OBP-401)は、Telomelysinを基本骨格としてオワンクラゲ由来の蛍光遺伝子 GFP 遺伝子をウイルスゲノムのE3領域に組み込んでおり、ウイルス増殖とともにがん細胞で選択的に GFP 蛍光を発現する。

できる最も強力な抗原提示細胞であり、近年癌治療への応用が積極的に進められている。Advexinの腫瘍内局注は局所的には有効であると思われるが、遠隔転移巣や微小病変に対してはアプローチが困難である。そこで、Advexinを感染させた末梢血単球由来の樹状細胞 (INGN225)を用いた全身療法としての免疫遺伝子治療の可能性が検討されている。化学療法を終了した19例の進行小細胞肺癌患者にINGN225を3回皮内投与したところ、評価可能であった28例中16例 (57.1%)で明らかな免疫学的反応の増強が観察された。また、臨床的には29例中1例でPR、7例でSDであった。21例はPDであったが、second-lineの化学療法に13例

(SD + PR [61.9%])が反応し、本治療が小細胞肺癌細胞の抗癌剤感受性を増強する可能性が示唆された。この臨床効果は、免疫学的反応と相関していた²²⁾。

(3) 頭頸部がん

頭頸部がんは、反復投与の簡便さと腫瘍の局所制御の臨床的有用性により、早い時期からAdvexinのよい対象疾患と考えられてきた。MD アンダーソンがんセンターを中心に第I相臨床試験を終了し、その後217例の患者を対象に米国とヨーロッパで3つの多施設共同の第II相臨床試験を実施した。さらに2000年には、米国、カナダ、およびヨーロッパのおよそ80施設で、治療抵抗性の頭頸部がん患者240例に対するAdvexin

とメソトレキセートの比較試験と、288例の再発頭頸部がん患者での標準化学療法と標準化学療法+Advexinの比較の2つの第Ⅲ相臨床試験を開始している²³⁾。2003年2月に、Advexinは米国FDAから頭頸部がんの希少疾病用医薬品（オーファンドラッグ）認定を受け、また切除不能な再発頭頸部がんに対する迅速審査対象（fast track drug product）となった。2008年6月には、標的のがん組織の遺伝子解析と免疫組織染色で選別した効果を予測できる患者集団ではAdvexinによって臨床的な抗腫瘍効果と延命効果が得られたとして、開発を担当してきたIntrogen Therapeutics社は米国FDAとヨーロッパの当局にBiologics License Application (BLA)申請を行った。この申請が承認されれば、Advexinは中国以外でははじめて世界で使用可能な遺伝子治療薬となる。

腫瘍選択的ウイルス療法の開発

最近の遺伝子工学の進歩により、ウイルスゲノムを改変し、その安全性を高めたり特殊な機能を増強する

ことが可能となってきた。ウイルスは、本来ヒトの細胞に感染、増殖し、その細胞を様々な機序により破壊する。腫瘍特異的なプロモーターでウイルス初期遺伝子の転写制御を行うことで、その増殖機能に腫瘍選択性を付加し、ウイルスをがん細胞のみを傷害する治療用製剤として用いることができる²⁴⁾ (図2)。

1. Telomelysin (OBP-301)

1) Telomelysinの構造と抗腫瘍効果

テロメラーゼは染色体末端のTTAGGG配列を伸長しテロメア長を保つ作用を持つリボ核酸蛋白酵素である。きわめて多くのがん細胞でその活性の上昇が認められており、選択的がん治療の標的として注目されている。その構成サブユニット*hTERT* (human telomerase reverse transcriptase) 遺伝子のプロモーターを用いた腫瘍特異的改変アデノウイルス製剤Telomelysin (開発コード：OBP-301)は(図1)、多くのヒト悪性腫瘍に対して*in vitro* および*in vivo*で強力な抗腫瘍効果を示す^{25,26)}。

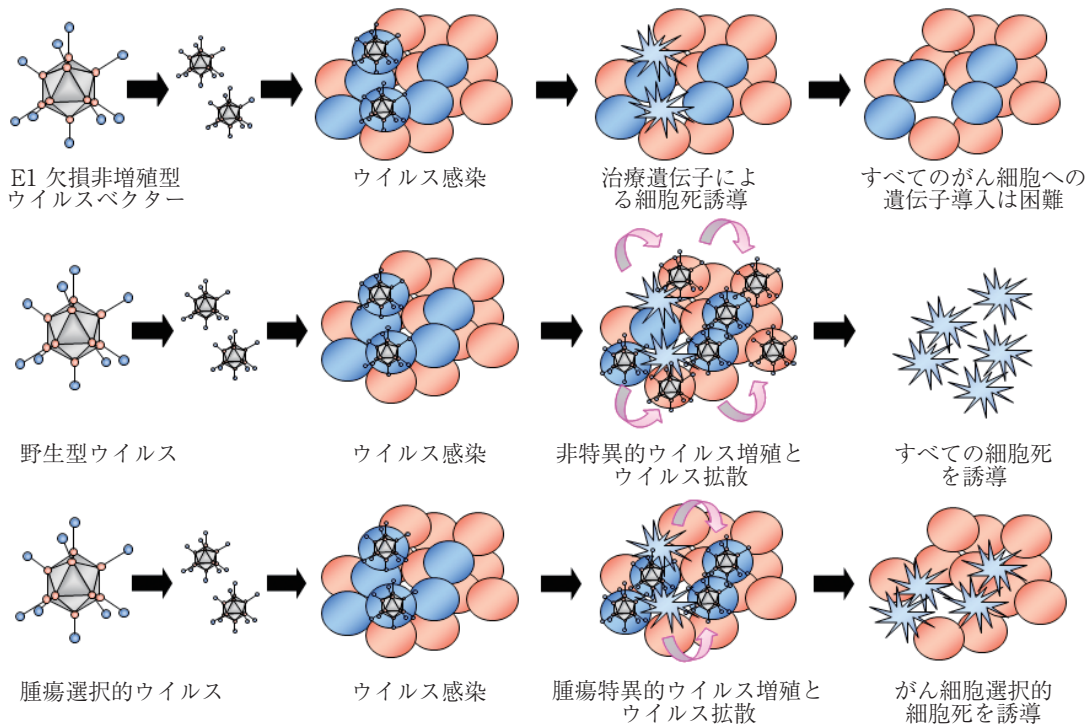


図2 がん細胞での選択的なウイルス増殖と細胞死誘導

E1欠損非増殖型アデノウイルスベクターによる治療遺伝子の導入では、感染したがん細胞は効率よく殺傷することが可能である。しかし、すべてのがん細胞に初期感染で遺伝子導入することは困難であるため、がん細胞の遺残は免れない。一方、野生型アデノウイルスはがん細胞でも正常細胞でも増殖して細胞死を誘導するため、正常組織への影響が副作用として現れる可能性が高い。腫瘍選択的ウイルスでは、がん細胞のみで増殖・複製するため、がん細胞を選択的に殺傷することができ、また初期感染を免れたがん細胞へも伝播して行くことができる。

2) Telomelysin の第 I 相臨床試験

Telomelysin をコア技術として、平成16年3月に著者らは岡山大学発バイオベンチャー オンコリスバイオファーマ(株)を設立し、がんの治療用・診断用医薬品としての臨床開発を推進している。各種進行固形がんを対象とした臨床プロトコル「A phase I injection study of intratumoral injection with telomerase-specific replication-competent oncolytic adenovirus, Telomelysin (OBP-301) for various solid tumors」は、米国FDAにより承認され、平成18年10月から米国ダラスにて第 I 相臨床試験が開始された²⁷⁾。

現在、試験はまだ進行中であるが、Telomelysin の単回腫瘍内投与による安全性と体内動態、抗体産生をはじめとする免疫学的反応、生検サンプルによる組織学的解析、画像診断による臨床効果などを検討する。ウイルス量は 10^{10} virus particle (vp) から 10^{12} vp まで段階的に増量し、体内動態は定量的 DNA-PCR 法を用いて解析する。ウイルスゲノムは投与後24時間以内に末梢血中に検出可能であったが、さらに症例によっては7~14日後に第2のピークが認められ、投与された腫瘍内での Telomelysin の増殖が示唆された。初期9例の検討では、すべての症例で投与後28日間では SD であり、6例では腫瘍サイズの縮小が認められた。今後、食道がん、頭頸部がん、肝臓がんなどを対象とした第 II 相臨床試験を計画する予定である。

2. TelomeScan (OBP-401)

診断用ウイルス製剤 TelomeScan (OBP-401) は、Telomelysin を基本骨格として GFP 遺伝子をウイルスゲノムに組み込んでおり(図1)、生体内でのがん組織、特に転移リンパ節を可視化するナビゲーション・ツールとして使用可能である²⁸⁾。臨床的には、内視鏡などのアクセスを用いて原発腫瘍内に局所投与することで、TelomeScan はリンパ節内の微小転移巣でがん細胞に感染・増殖して選択的に GFP 蛍光を発するため、一定期間の後に開胸あるいは開腹にて転移リンパ節を可視化することができる。この技術により、微小リンパ節転移を手術中にリアルタイムに検出してリンパ節郭清範囲を同定する低侵襲外科手術が可能となる。このシステムでは、センチネルリンパ節生検と異なり、転移リンパ節そのものを同定できる点で現実性の面から極めて実用的と言える。

おわりに

Advexin や Telomelysin などのウイルス製剤によるがん治療は、従来の抗がん剤や放射線療法と全く異なる作用機序に基づく治療戦略であり、これらの標準治療の耐性機構を克服できる可能性を秘めている。また、正常細胞に影響を与えずがん細胞を選択的に傷害するというコンセプトは重要である。しかし、現実的にはウイルスに対する免疫反応や生体内分布、さらには腫瘍内でのウイルスの拡散分布など、これから検討すべき問題点は多い。今後さらに基礎研究、臨床研究が進むことで Advexin や Telomelysin などのウイルス製剤の有効性が確認され、がん治療に広く使用されるようになることを切望する。

文 献

- 1) Recombinant DNA Advisory Committee - Protocol List (<http://www4.od.nih.gov/oba/rac/documents1.htm>)
- 2) Barquinero J, Eixarch H, Pérez-Melgosa M: Retroviral vectors: new applications for an old tool. *Gene Ther* (2004) 1, S3-9.
- 3) Fehse B, Roeder I: Insertional mutagenesis and clonal dominance: biological and statistical considerations. *Gene Ther* (2008) 15, 143-153.
- 4) Logg CR, Tai CK, Logg A, Anderson WF, Kasahara N: A uniquely stable replication-competent retrovirus vector achieves efficient gene delivery *in vitro* and in solid tumors. *Hum Gene Ther* (2001) 12, 921-932.
- 5) Sakurai F, Kawabata K, Mizuguchi H: Adenovirus vectors composed of subgroup B adenoviruses. *Curr Gene Ther* (2007) 7, 229-238.
- 6) Alba R, Bosch A, Chillon M: Gutless adenovirus: last-generation adenovirus for gene therapy. *Gene Ther* (2005) 12, S18-27.
- 7) Schultz BR, Chamberlain JS: Recombinant adeno-associated virus transduction and integration. *Mol Ther* (2008) 16, 1189-1199.
- 8) Jain KK: Nanotechnology-based drug delivery for cancer. *Technol Cancer Res Treat* (2005) 4, 407-416.
- 9) Kaneda Y, Yamamoto S, Nakajima T: Development of HVJ envelope vector and its application to gene therapy. *Adv Genet* (2005) 5, 307-332.
- 10) Ward JE, McNeel DG: GVAX: an allogeneic, whole-cell, GM-CSF-secreting cellular immunotherapy for the treatment of prostate cancer. *Expert Opin Biol Ther* (2007) 7, 1893-1902.
- 11) Petruccio CA, Kaufman HL: Development of the PANVAC-VF vaccine for pancreatic cancer. *Expert Rev Vaccines* (2006) 5, 9-19.

- 12) Sangro B, Melero I, Qian C, Prieto J : Gene therapy of cancer based on interleukin 12. *Curr Gene Ther* (2005) 5, 573-581.
- 13) Tong AW, Nemunaitis J, Su D, Zhang Y, Cunningham C, Senzer N, Netto G, Rich D, Mhashilkar A, Parker K, Coffee K, Ramesh R, et al. : Intratumoral injection of INGN 241, a nonreplicating adenovector expressing the melanoma-differentiation associated gene-7 (mda-7/IL24) : biologic outcome in advanced cancer patients. *Mol Ther* (2005) 11, 160-172.
- 14) Senzer N, Mani S, Rosemurgy A, Nemunaitis J, Cunningham C, Guha C, Bayol N, Gillen M, Chu K, Rasmussen C, Rasmussen H, Kufe D, et al. : TNFerade biologic, an adenovector with a radiation-inducible promoter, carrying the human tumor necrosis factor alpha gene : a phase I study in patients with solid tumors. *J Clin Oncol* (2004) 22, 592-601.
- 15) Immonen A, Vapalahti M, Tyynelä K, Hurskainen H, Sandmair A, Vanninen R, Langford G, Murray N, Ylä-Herttua S : AdvHSV-tk gene therapy with intravenous ganciclovir improves survival in human malignant glioma : a randomised, controlled study. *Mol Ther* (2004) 10, 967-972.
- 16) Levine AJ : p53, the cellular gatekeeper for growth and division. *Cell* (1997) 88, 323-331.
- 17) Fujiwara T, Grimm EA, Mukhopadhyay T, Zhang WW, Owen-Schaub LB, Roth JA : Induction of chemosensitivity in human lung cancer cells *in vivo* by adenovirus-mediated transfer of the wild-type p53 gene. *Cancer Res* (1994) 54, 2287-2291.
- 18) Nishizaki M, Fujiwara T, Tanida T, Hizuta A, Nishimori H, Tokino T, Nakamura Y, Bouvet M, Roth JA, Tanaka N : Recombinant adenovirus expressing wild-type p53 is antiangiogenic : a proposed mechanism for bystander effect. *Clin Cancer Res* (1999) 5, 1015-1023.
- 19) Waku T, Fujiwara T, Shao J, Itoshima T, Murakami T, Kataoka M, Gomi S, Roth JA, Tanaka N : Contribution of CD95 ligand-induced neutrophil infiltration to the bystander effect in p53 gene therapy for human cancer. *J Immunol* (2000) 165, 5884-5890.
- 20) Fujiwara T, Tanaka N, Kanazawa S, Ohtani S, Saijo Y, Nukiwa T, Yoshimura K, Sato T, Eto Y, Chada S, Nakamura H, Kato H : Multicenter phase I study of repeated intratumoral delivery of adenoviral p53 (ADVEXIN) in patients with advanced non-small cell lung cancer. *J Clin Oncol* (2006) 24, 1689-1699.
- 21) Swisher SG, Roth JA, Komaki R, Gu J, Lee JJ, Hicks M, Ro JY, Hong WK, Merritt JA, Ahrar K, Atkinson NE, Correa AM, et al. : Induction of p53-regulated genes and tumor regression in lung cancer patients after intratumoral delivery of adenoviral p53 (INGN 201) and radiation therapy. *Clin Cancer Res* (2003) 9, 93-101.
- 22) Antonia SJ, Mirza N, Fricke I, Chiappori A, Thompson P, Williams N, Bepler G, Simon G, Janssen W, Lee JH, Menander K, Chada S, et al. : Combination of p53 cancer vaccine with chemotherapy in patients with extensive stage small cell lung cancer. *Clin Cancer Res* (2006) 12, 878-887.
- 23) INGN 201 : Ad-p53, Ad5CMV-p53, adenoviral p53, p53 gene therapy-introgen, RPR/INGN 201. *Drugs R D* (2007) 8, 176-187.
- 24) Hawkins LK, Lemoine NR, Kirn D : Oncolytic biotherapy : a novel therapeutic platform. *Lancet Oncol* (2002) 3, 17-26.
- 25) Kawashima T, Kagawa S, Kobayashi N, Shirakiya Y, Umeoka T, Teraishi F, Taki M, Kyo S, Tanaka N, Fujiwara T : Telomerase-specific replication-selective virotherapy for human cancer. *Clin Cancer Res* (2004) 10, 285-292.
- 26) 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. *Cancer Sci* (2008) 99, 385-390.
- 27) 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.
- 28) Kishimoto H, Kojima T, Watanabe Y, Kagawa S, Fujiwara T, Uno F, Teraishi F, Kyo S, Mizuguchi H, Hashimoto Y, Urata Y, Tanaka N, et al. : *In vivo* imaging of lymph node metastasis with telomerase-specific replication-selective adenovirus. *Nat Med* (2006) 12, 1213-1219.