20000365

厚生科学研究研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

ヒト癌拒絶抗原遺伝子同定と癌ワクチン開発に関する研究

平成12年度　総括・分担研究報告書

主任研究者　伊東　恭悟

平成13年（2001）年３月

目　　次

Ⅰ．総括研究報告

ヒト癌拒絶抗原遺伝子同定と癌ワクチン開発に関する研究 -------------------------------- 1
伊東　恭悟

資料
（表１）H10-ゲノム-003 等の援助のもとに同定されたヒト癌拒絶抗原遺伝子及び同ペプチド
（表２）久留米大学にて実施された癌抗原ペプチドを用いた第Ⅰ相臨床試験
（表３）CTL 前駆体同定に基づく癌ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾜｸﾁﾝ第Ⅰ相臨床試験に用いられるペプチド
（表４）CTL precursor-oriented peptide vaccine 第Ⅰ相臨床試験
（図１）CTL precursor-oriented peptide vaccine time schedule

Ⅱ．分担研究報告

ヒト癌拒絶抗原遺伝子同定と癌ワクチン開発に関する研究 -------------------------------- 13
山名　秀明

資料
（表１）H10-ゲノム-003 等の援助のもとに同定されたヒト癌拒絶抗原遺伝子及び同ペプチド
（表２）久留米大学にて実施された癌抗原ペプチドを用いた第Ⅰ相臨床試験
（表３）CTL 前駆体同定に基づく癌ﾍﾟﾌﾟﾁﾄﾞﾜｸﾁﾝ第Ⅰ相臨床試験に用いられるペプチド
（表４）CTL precursor-oriented peptide vaccine 第Ⅰ相臨床試験
（図１）CTL precursor-oriented peptide vaccine time schedule

Ⅲ．研究成果の刊行に関する一覧表 -- 24

Ⅳ．研究成果の刊行物・別冊 --- 27

厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総括研究報告書

ヒト癌拒絶抗原遺伝子同定と癌ワクチン開発に関する研究

主任研究者　伊東恭悟　久留米大学医学部免疫学講座教授

研究要旨　悪性黒色腫において、癌細胞 HLA-クラスⅠ分子上のペプチド抗原の臨床応用、即ち癌ワクチンの実用化にむけて欧米を中心に着々と基礎及び臨床研究が進展しつつある。しかし、癌種でもっとも多い上皮性悪性腫瘍（扁平上皮癌及び腺癌）においては、まだ遺伝子の同定等も不充分である。本研究では、ヒト HLA-クラスⅠ拘束性上皮癌特異的キラーT 細胞（Cytotoxic T Lymphocytes, CTL）の認識する癌拒絶抗原遺伝子をクローニングし、それらにコードされる癌ペプチド抗原を同定し、さらに同ペプチドによる in vitro 及び in vivo（臨床研究を介して）における CTL 誘導能を明らかにすることによる癌ワクチン開発を主目的とした。癌種としては本邦において頻度の高い消化管癌、肺癌、肝癌、頭頚部癌、腎癌、子宮癌、卵巣癌及び乳癌を主な対象とし、癌組織型としてはそれらの大部分を占める扁平上皮癌及び腺癌に絞って研究する。また、HLA-クラスⅠ抗原では本邦で発現頻度の高い HLA-A24（60％）、HLA-A2（40％）及び HLA-A26（22％）を主に対象とした。日本人の 90％以上は少なくとも HLA-A24、-A2、-A26 のいずれか一方を保有するのみならず、上記 HLA アレールは人種を越えて広く認められる。平成 12 年度における基礎研究では、HLA-A2 拘束性癌退縮抗原遺伝子とそのペプチドの同定に力点をおいた。一方、臨床研究では HLA-A24 癌患者に対する臨床試験により新規ペプチドワクチンの有害事象と癌特異的誘導能を判定した。また、ペプチド特異的 CTL 前駆体をワクチン前に同定し、該当するペプチドのみを投与する CTL precursor-oriented peptide vaccine を平成 12 年 10 月より開始した。

分担研究者：山名秀明
久留米大学医学部外科学講座・教授

A．研究目的

本研究の主目的は、ヒト HLA 拘束性癌特異的 CTL 株を作製しそれの認識する癌拒絶抗原遺伝子をクローニングし、上皮性癌患者に対して臨床応用可能な腫瘍特異免疫療法の標的分子を開発することである。本邦において多発する癌、即ち肺癌、消化管癌（食道、胃、大腸癌）、肝癌、頭頚部癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、腎癌及び白血病を主な対象とし、組織型としてはそれらの大部分を占める扁平上皮癌及び腺癌に絞って研究する。また HLA としては本邦でも発現頻度の高い HLA-A24（癌患者の約 6 割）、HLA-A2（約 4 割）、及び HLA-A26（約 2 割）抗原拘束性の CTL 認識性癌退縮抗原の同定を目指す。次いで HLA-A11（2 割）、-A31（2 割弱）、-A33（2 割弱）を対象とする。

B．研究方法

1）癌局所浸潤 T リンパ球の IL-2 存在下での大量培養、もしくは末梢 T リンパ球を自家癌にて刺激することによりヒト HLA 拘束性癌特異的 CTL 株を作製し、それの認識する癌拒絶抗原遺伝子をクローニングした。遺伝子クローニングには T. Boon らの開発した gene-expression cloning 法の改良法を用いた。

2）癌腫としては、日本人に多発する上皮癌（腺癌及び扁平上皮癌）を主な対象とし、HLA としては HLA－クラス\u0000抗原を主対象として、その中で本邦で発現頻度の高い HLA-A24（癌患者の約 6 割）、HLA-A2（約 4 割）、HLA－A26（約 2 割）拘束性の CTL 認識性癌退縮抗原とペプチドの同定を実施した。

3）上記にて同定した癌拒絶抗原内に存在する CTL 株により認識されるペプチド抗原を同定し、それらを合成して癌患者リンパ球より HLA 拘束性キラーT 細胞誘導能の有無を解析し、癌ワクチンとしての臨床応用の可能性について基礎的研究を実施した。

4）キラーT 細胞誘導能の明らかなペプチドについては、臨床応用可能なグレードのペプチド（GMP グレード）を用いての第Ⅰ相臨床試験を、有害事象の有無と CTL 誘導能の有無を主目的として山名秀明分担研究者を中心として本久留米大学にて実施した。さらに平成 12 年度からはペプチド特異的 CTL 前駆体をワクチン投与前に決定し、該当するペプチ

ドのみを投与する CTL precursor-peptide vaccine を開始した。

（倫理面への配慮）

1) 本研究は「ヒトのクローンに関する研究等」に該当するおそれは全くないと判断される。in vitro にて癌特異的キラーT細胞を誘導する目的にて採血する場合は、本分担研究者の山名及び他の研究協力医が直接患者に充分時間をとってその目的を説明し、理解と同意の得られた場合に限って 15～30ml 採血して研究に供している。

2) 第Ⅰ相臨床試験についての配慮点：GMP グレートのペプチドを米国 NCI 外科における臨床試験の基準にのっとり米国 MPS 社へ依頼して作成し（Nature Med.4：321,1998）、無菌試験及びシークエンスを本研究室にて再確認した後、本学内での倫理委員会での審査を経て、現在７つの臨床試験を実施中である。試験毎に専任の臨床研究コーディネーター（有医師資格の本学助手）が、被験者から自由意志による十分な説明を受けた上での同意（インフォームド・コンセント）を得て常時実施した。さらに、同コーディネーターを中心として被験者及びその家族の疑問に答え、不安に対応するために常時カウンセリングを行う体制を可及的にひいている。現在進行中の CTL precursor-oriented peptide vaccine （ペプチド特異的 CTL 前駆体同定に基づくペプチドワクチン）の第Ⅰ相臨床試験は、本学倫理委員会での審査承認を経て平成 12 年度 10 月より開始した（審査結果及びプロトコール概要を資料１として添付）。本試験においては専任の臨床研究コーディネーター（医師資格の本学助手）の他にデータマネージャー及び臨床試験看護婦の参加をえて、臨床研究の充実と患者や家族への十分な対応が可及的にできる体制をひいている。

C．研究結果

平成 12 年度基礎研究は主として HLA-A2 上皮性癌（腺癌及び扁平上皮癌）において、CTL により認識される癌抗原を遺伝子レベル及びペプチドレベルで多数明らかにしてきた。即ち、HLA-A2 上皮性癌細胞株 cDNA ライブラリー（膵癌、大腸癌、脳腫瘍）より cDNA 発現クローニング法によって CTL エピトープをコードする遺伝子を 50 個以上同定した(表 1)。また、それらにコードされるペプチドを 100 種類以上同定してきた。これらのペプチドで誘導した CTL は癌細胞株に対しては傷害性を有するものの、正常細胞に対してはたとえ過剰の当該ペプチド存在下でも細胞傷害性を示さなかった。一方、平成 12 年度臨床研究は、安全性と CTL 誘導能の有無を主目的として、HLA-A24 陽性高度進行上皮性癌患者を対象に 6 つの異なる第Ⅰ相臨床試験を久留米大学医学部附属病院にて実施した。対象は肺癌、大腸癌、食道癌及び婦人科癌である（表 2）。これまでの解析では、投与したペプチドによる有害事象は局所の発赤、腫脹以外認められていない。また、癌細胞及び投与ペプチドに対して特異的認識を示す CTL が殆どの症例においてペプチド投与後増加（もしくは誘導）していることが確認された。さらに、あらかじめ癌抗原ペプチド特異的 CTL 前駆体の患者末梢血リンパ球内における存在の有無を、新技術を開発して測定可能とした。従って平成 12 年 10 月からは、患者末梢血のペプチド特異的 CTL 前駆体を確認しての CTL precursor-oriented peptide vaccine をより有効な癌ワクチンとして HLA-A24 及び-A2 の各種癌患者に対して第Ⅰ相臨床試験として実施中である（図 1, 表 3, 表 4)。

D．考察

平成 12 年度は HLA-A2 上皮性癌患者へのペプチドワクチン開発において一定の成果が得られた。即ち、これまでメラノーマに限定されていた HLA-A2 用ペプチドワクチンが上皮癌患者においても実現可能となった。また、HLA-A24 上皮癌患者へのペプチドワクチン第Ⅰ相臨床試験を実施し、その安全性を確認し、CTL 誘導能増強を多くの症例において得られた。従って、第Ⅱ相臨床試験への目途がついたと評価される。これらの研究結果は、癌患者個々の免疫学的特性（HLA 多様性、癌抗原の有無、CTL 前駆体の有無）に 5 づいたオーダーメイドの癌予防や治療法の開発に科学的基盤を賦与すると考えられる。さらに、これらの成果が癌特異免疫療法や宿主免疫機能を温存した集学的癌治療の実現や、発癌初期における予防及び防御免疫誘導を主目的とした癌免疫療法の開発にも科学的基盤を賦与するものと考えられる。

E．結論

初期の研究計画に立脚し、50 種類以上のヒト HLA-A2 拘束性癌拒絶抗原と 100 以上のペプチド分子を同定した(表 1) 。一方、HLA-A24 上皮癌症例に対しては 6 つの異なるペプチドワクチン第Ⅰ相臨床試験を開始し、その安全性を確立し、また CTL 誘導能の有無を明らかにした。更に簡便なペプチド特異的 CTL 前駆対の同定法を開発した（表 2)。第２世代の CTL Precursor-oriented peptide vaccine を平成 12 年より開始した（図 1, 表 3, 表 4)。

F．健康危険情報

ペプチドワクチン臨床試験に伴う有害事象／薬物有害反応については、分担研究者（山名秀明氏）の報告書にて詳しく記載致しますのでそちらをご参照ください。

G．研究発表

1．論文発表

1-1．論文発表（英文査読誌掲載論文）

1. Nakao, M., Shichijo, S., Imaizumi, T., Inoue, Y., Matsunaga, K., Yamada, A., Kikuchi, M., Tsuda, N., Ohta, K., Takamori, S., Yamana, H., Fujita, H., and Itoh, K., Identification of a gene coding for a new squamous cell carcinoma antigen recognized by the CTL. J. Immunol. 164: 2565-2574, 2000.

2. Harada, K., Yamada, A., Mine, T., Kawagoe, N., Takasu, H., and Itoh, K., Mouse homologue of the human SART3 gene encoding tumor-rejection antigen. Jpn. J. Cancer Res. 91: 239-247, 2000.

3. Hamaguchi, K., Kimura, A., Seki, N., Higuchi, T., Yasunaga, S., Takahashi, M., Sasazuki, T., Kusuda, Y., Okeda, T., Itoh, K., and Sakata, T., Analysis of tumor necrosis factor-α promoter polymorphism in type 1 diabetes: HLA-B and -DRB1 alleles are primarily associated with the disease in Japanese. Tissue Antigens 55: 10-16, 2000.

4. Seki, N., Yamada, A., Suefuji, Y., Mine, T., Tanaka, S., Gomi, SY., Kawagoe, N., Koufuji, K., and Itoh, K., Establishment and epitope analysis of allo-specific cytotoxic T lymphocytes at a tumor site recognizing a spouse's HLA-A0206 molecule. Am. J. Reprod Immunol. 43: 167-173, 2000.

5. Inoue, Y., Nakao, M., Matsunaga, K., Kikuchi, M., Gomi, S., Toh, U., Takamori, S., Yamana, H., and Itoh, K., Induction of human leukocyte antigen-A26-restricted and tumor-specific cytotoxic T lymphocytes by a single peptide of the SART1 antigen in patients with cancer with different A26 subtypes. J. Immunother 23: 296-303, 2000.

6. Kawagoe, H., Yamada, A., Matsumoto, H., Ito, M., Ushijima, K., Nishida, T., Yakushiji, M., and Itoh, K., Serum MAGE-4 protein in ovarian cancer patients. Gynecol Oncol. 76: 336-339, 2000.

7. Niiya, F., Nishizaka, S., Matsunaga, K., Koufuji, K., Mori, M., Katai, H., Yamana, H., and Itoh, K., Expression of SART3 tumor-rejection antigen in gastric cancers. Jpn. J. Cancer Res. 91: 337-342, 2000.

8. Murayama, K., Kobayashi, T., Imaizumi, T., Matsunaga, K., Kuramoto, T., Shigemori, M., Shichijo, S., and Itoh, K., Expression of the SART3 tumor-rejection antigen in brain tumors and induction of cytotoxic T lymphocytes by its peptides. J. Immunother. 23: 511-518, 2000.

9. Shintaku, I., Kawagoe, N., Yutani, S., Hoshi, S., Orikasa, S., Yoshizumi, O., and Itoh, K., Expression of the SART1 tumor rejection antigen in renal cell carcinoma. Urol Res. 28: 178-184, 2000.

10. Sasatomi, T., Yamana, H., Shichijo, S., Tanaka, S., Okamura, T., Ogata, Y., Itoh, K., and Shirouzu, K., Expression of the SART1 tumor-rejection antigens in colorectal cancers. Dis. Colon Rectum. 43: 1754-1758, 2000.

11. Mine, T., Harada, K., Matsumoto, T., Yamana, H., Shirouzu, K., Itoh, K., and Yamada, A., CDw108 expression during T-cell development. Tissue Antigens 55: 429-436, 2000.

12. Kamizono, S., Yamada, K., Seki, N., Higuchi, T., Kimura, A., Nonaka, K., and Itoh, K., Susceptible locus for obese type 2 diabetes mellitus in the 5'-flanking region of the tumor necrosis factor-alpha gene. Tissue Antigens 55: 449-452, 2000.

13. Ishida, H., Komiya, S., Inoue, Y., Yutani, S., Inoue, A., and Itoh, K., Expression of the SART1 tumor-rejection antigen in human

osteosarcomas. Int. J. Oncol. 17: 29-32, 2000.

14. Kawano, K., Gomi, S., Tanaka, K., Tsuda, N., Kamura, T., Itoh, K., Yamada, A., Identification of a new endoplasmic reticulum-resident protein recognized by HLA-A24-restricted tumor-infiltrating lymphocytes of lung cancer. Cancer Res. 60: 3550-3558, 2000.

15. Ito, M., Shichijo, S., Miyagi, Y., Kobayashi, T., Tsuda, N., Yamada, A., Saito, N., and Itoh, K., Identification of SART3-derived peptides capable of inducing HLA-A2-restricted and tumor-specific CTLs in cancer patients with different HLA-A2 subtypes. Int. J. Cancer 88: 633-639, 2000.

16. Kawagoe, N., Shintaku, I., Yutani, S., Etoh, H., Matuoka, K., Noda, S., and Itoh, K., Expression of the sart3 tumor rejection antigen in renal cell carcinoma. J. Urol. 164: 2090-2095, 2000.

17. Nishizaka, S., Gomi, S., Harada, K., Oizumi, K., Itoh, K., and Shichijo, S., A new tumor-rejection antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes infiltrating into a lung adenocarcinoma. Cancer Res. 60: 4830-4837, 2000.

18. Toh, U., Yamana, H., Sueyoshi, S., Tanaka, T., Niiya, F., Katagiri, K., Fujita, H., Shirozou, K., and Itoh, K., Locoregional cellular immunotherapy for patients with advanced esophageal cancer. Clin. Cancer Res. 6:4663-4673, 2000.

19. Kamizono, S., Hiromatsu, Y., Seki, N., Bednarczuk, T., Matsumoto, H., Kimura, A., and Itoh, K., A polymorphism of the 5' flanking region of tumour necrosis factor alpha gene is associated with thyroid-associated ophthalmopathy in Japanese. Clin. Endocrinol (Oxf). 52: 759-764, 2000.

20. Tanaka, S., Tsuda, N., Kawano, K., Sakamoto, M., Nishida, T., Hashimoto, T., Shichijo, S., Kamura, T., and Itoh, K., Expression of Tumor-rejection Antigens in Gynecologic Cancers. Jpn. J. Cancer Res. 91: 1177-1184, 2000.

21. Sugita, S., Taguchi, C., Takase, H., Sagawa, K., Sueda, J., Fukushi, K., Hikita, N., Watanabe, T., Itoh, K., and Mochizuki, M., Soluble fas ligand and soluble fas in ocular fluid of patients with uveitis. Br. J. Ophthalmol. 84: 1130-1134, 2000.

22. Tsuda, N., Murayama, K., Ishida, H., Matsunaga, K., Komiya, S., Itoh, K, and Yamada, A., Expression of a newly defined tumor-rejection antigen SART3 antigen in musculoskeletal tumors and induction of HLA-class I-restricted CTLs by SART3-derived peptides. J. Orthopedic Research 2001, in press.

23. Harashima, N,. Tanaka, K., Sasadomi, T., Locoregional, Y., Miyagi, Y., Yamada, A., Tamura, M., Yamana, H., Itoh., K., and Shichijo, S., Recognition of the Lck tyrosine kinase as a tumor antigen by T cells of metastatic cancer patients. Eur. J. Immunol. 31:323-32.2001.

24. Suefuji, Y., Sasatomi, T., Shichijo, S., Nakagawa, S., Deguchi, H., Koga, T., Kameyama, T., and Itoh, K., Expression of SART3 antigen and induction of CTLs by SART3-derived peptides in breast cancer patients. British J. Cancer 2001, in press.

25. Ito, M., Schichijo, S., Tsuda, N., Ochi, M., Harashima, N., Saito, N., and Itoh, K., Molecular basis of T cell-mediated recognition of pancreatic cancer cells. Cancer Research 2001, in press.

26. Yutani, S., Shichijo, S., Inoue, Y., Kawagoe, N., Okuda, K., Kurohiji, T., Tanaka, M., Sata, M., and Itoh, K., Expression of the SART1 tumor-rejection antigen in hepatocellular carcinomas. Oncol Rep., 8:369-372, 2001.

1-2. 論文発表（レビュー・其の他）

1. Itoh, K., Shichijo, S., Inoue, Y., Hayashi, A.,

Toh, U., and Yamana, H., SART1 gene encoding squamous cell carcinoma antigen recognized by cytotoxic T lymphocytes. In: Cell Therapy. (eds) Ikeda, Y., et al., pp16-28, Springer, Tokyo, 2000.

2. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Kubota H, Sasahara H, Shirouzu K, Itoh K : Specific adoptive immunotherapy with autologous tumor cell-activated lymphocytes for esophageal cancer. Biotherapy 14(1): 26-28, 2000.

1-3. 論文発表（和文・著書）

1. 伊東恭悟，河上　裕，珠玖　洋：県談「癌と免疫」．現代医療，現代医療社，2000；32：1046-1066.

2. 山名秀明，伊東恭悟：癌ワクチン．癌と化学療法，癌と化学療法社，2000；27：1477-1488.

3. 伊東恭悟，山名秀明，七條茂樹，山田　亮：7．癌抗原ペプチドワクチン遺伝子同定から臨床研究へ．日外会誌，2000；101：612-617.

4. 山名秀明，伊東恭悟：がんペプチドワクチン臨床試験のガイドラインについての提案．分子細胞治療，先端医学社，2000；1：89-95.

5. 伊東恭悟，七條茂樹，山名秀明：上皮性癌ワクチン分子の同定と臨床応用．中山睿一　編集．組織培養工学，ニューサイエンス社，東京，2000；27：13-17.

6. 伊東恭悟，山田　亮：HLA 多型と癌治療－宿主免疫機構を重視した癌治療法の確立に向けて－．Molecular Medicine，中山書店，2000；37：590-596.

7. 山名秀明，伊東恭悟：8　扁平上皮癌抗原 SART を標的とした免疫療法．血液・免疫・腫瘍，メディカルビュー社，2000；5：167-172.

8. 山名秀明，唐　宇飛，伊東恭悟：進行食道癌に対する免疫療法．消化器外科，へるす出版，東京，2000；23：1029-1036.

9. 神田達夫，高橋益廣，海部　勉，西巻　正，伊東恭悟，鼻山勝義：癌抗原ペプチドと樹状細胞を用いた癌ワクチン療法（SART1）．Surgery Frontier，メディカルビュー社，2000；7：38-42.

10. 伊東恭悟，五味慎也，七條茂樹，山名秀明：ヒト上皮性腫瘍の抗原ペプチドと遺伝子．現代医療，現代医療社，東京，2000；32：1081-1088.

11. 唐　宇飛，山名秀明，白水和雄，伊東恭悟：進行癌に対する自己活性化リンパ球の癌局所移入療法。医学のあゆみ，2000；195(1): 62-66.

2．学会発表

2-1．海外発表

The 10th Congress of the European Society of Surgical Oncology (2000/04/05-08: Groningen)

1. Tou U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Shirouzu K, Itoh K : Specific adoptive immunotherapy of esophageal cancer with endoscopic intratumoral injection of autologous tumor-activated T cells

The 36th Annual Meeting of the ASCO (2000/05/20-23:New Orleans)

2. Tou U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Isomoto H, Shirouzu K, Itoh K : immunotherapy of esophageal cancer patients through an endoscope.

The 91st Annual Meeting of the AACR (2000/04/01- 05:San Francisco, CA)

3. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Isomoto H, Shirouzu K, Itoh K : Endscopic intra-and peritumoral injection of autologous tumor-activated T cells for specific adoptive immunotherapy of esophageal cancer

4. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Isomoto H, Shirouzu K, Itoh K : Endscopic intra-and peritumoral injection of autologous tumor-activated T cells for specific adoptive immunotherapy of esophageal cancer

5. Sasatomi T, Yang D, Miyagi Y, Yamana H, Ogata Y, Shirouzu K, Itoh K : Expression of the tumor-rejection antigen SART3 in colorectal cancers

6. Ohkochi S, Tanaka M, Saijo Y, Itoh K, Nukiwa T : Induction of HLA-A24-restricted cytotoxic T Lymphocytes in vitro by cyclophilin B peptides from patients with lung cancer

2-2. 国内発表

1. 伊東恭悟，山名秀明：癌ペプチドワクチン；外科医による臨床研究の時代へ. 第 100 回日本外科学会総会，2000 年 4 月，東京.

2. 合原るみ，力丸　徹，一木昌郎，松永和子，今井伸恵，山田　亮，大泉耕太郎，伊東恭悟：ペプチドワクチンによる高度進行肺癌治療の免疫学的評価. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

3. 伊東恭悟，山名秀明，七條茂樹，山田亮，合原るみ：キラーT 細胞により認識される癌抗原ペプチド、遺伝子同定から臨床研究へ. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

4. 七條茂樹，伊藤雅昭，前田好章，伊東恭悟：大腸癌患者由来細胞傷害性 T 細胞(CTL)株が HLA-A2 拘束性に認識する抗原ペプチドをコードする遺伝子群. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

5. 山田亮，河野光一郎，古賀真，伊東恭悟：HLA-A24 拘束性 CTL により認識される肺癌拒絶抗原をコードする遺伝子の同定. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

6. 井上佳子，加藤和則，武井正夫，高上洋，鳶巣賢一，垣添忠夫，伊東恭悟，若杉尋：PAP 由来 HLA-A2402 結合性ペプチドに対する特異的 T 細胞の誘導と PAP 抗原を用いた細胞療法での免疫学的評価の検討. 第59回日本癌学会総会，2000 年10 月，横浜

7. 伊東恭悟，山名秀明，七條茂樹，山田亮，嘉村敏治，大泉耕太郎，白水和雄：難治性癌に対するペプチドによる癌特異免疫療法の可能性. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

8. 河野光一郎，五味慎也，田中耕二，津田尚武，嘉村敏治，山田亮，伊東恭悟：HLA-A24 拘束性肺癌腫瘍浸潤リンパ球によって認識される新規小胞体蛋白(ART-4)の同定とその解析. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

9. 伊藤雅昭，七條茂樹，津田尚武，斉藤典男，中島伸之，伊東恭悟：HLA-A2 拘束性膵癌拒絶抗原遺伝子及びエピトープの同定. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

10. 末藤祐一，笹富輝男，七條茂樹，古賀稔啓，伊東恭悟：ヒト乳癌における癌拒絶抗原 SART3 の発現. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

11. 津田尚武，村山久美子，石田漂太，松永和子，小宮節朗，伊東恭悟，山田亮：ヒト骨腫瘍における癌拒絶抗原(SART3)の発現. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

12. 唐宇飛，山名秀明，田中寿明，白水和雄，伊東恭悟：進行食道癌に対する細胞免疫療法. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

13. 宮城佳昭，笹富輝男，唐宇飛，緒方裕，古賀稔啓，山名秀明，藤田博正，松永和子，今井伸江，伊東恭悟，白水和雄：高度進行大腸癌を対象とした SART-3 ペプチドワクチンによる CTL 前駆体の変動. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

14. 辛紅，西條康夫，田中昌史，大河内眞也，萩原弘一，伊東恭悟，貫和敏博：肺腺癌抗原サイクロフィリン B ペプチドを用いた肺腺癌患者における細傷害性 T リンパ球の誘導と傷害活性. 第 59 回日本癌学会総会，2000 年 10 月，横浜.

15. Itoh Kyogo, Shichijo Shigeki, Yamada Akira, Yamana Hideaki: Peptides on tumor cells. From genes to clinical research. 第 30 回日本免疫学会学術集会，2000 年 11 月，仙台.

16. 峯孝志，山名秀明，唐宇飛，今井伸恵，檜田直也，白水和雄，伊東恭悟：癌ペプチドワクチン第 I 相試験の中間解析. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会，2000 年 12 月，京都.

17. 井上佳子，加藤和則，武井正夫，高上洋一，鳶巣賢一，垣添忠生，若杉尋，伊東恭悟：PAP 由来 HLA-A2402 結合性ペプチドに対するペプチド特異的 T 細胞の誘導と PAP 蛋白抗原を用いた細胞療法における免疫学的評価に関しての検討. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会，2000 年 12 月，京都.

18. 七條茂樹，前田好章，伊藤雅昭，伊東恭悟：消

化器癌症例において特異的 CTL を誘導可能な膵癌由来の腫瘍抗原ペプチドの同定. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

19. 檜田直也, 前田好章, 片桐和子, 田口千賀子, 高須秀夫, 原田大, 伊東恭悟：末梢血中に存在する抗原特異的 CTL 前駆細胞の簡便検出法（新細胞性免疫定性法）. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

20. 前田好章, 檜田直也, 新谷文彦, 七條茂樹, 佐藤裕二, 藤堂省, 伊東恭悟：胃癌症例末梢血中の腫瘍抗原ペプチド特異的 CTL 前駆細胞の検出 Evidence based vaccine の導入にむけて. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

21. 今井伸恵, 合原るみ, 力丸徹, 山田亮, 山名秀明, 伊東恭悟：ペプチドワクチンによる高度進行肺癌の免疫学的評価. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

22. 栄福亮三, 吉松隆, 安田学, 菅谷将一, 宗知子, 花桐武志, 竹之山光広, 伊東恭悟, 安元公正：肺癌における lckp56 ペプチドワクチン療法. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

23. 唐宇飛, 山名秀明, 林明宏, 高森信三, 松尾敏弘, 笹富輝男, 峯孝史, 白水和雄, 伊東恭悟：肺癌癌性胸・腹水に対する自己 TIL による免疫療法を行った 5 症例. 第 13 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会, 2000 年 12 月, 京都.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1．特許取得

1) 10－291702, 2000－116383
「ヒト癌退縮抗原タンパク質（ART-4）」

2) PCT / JP00 / 05220, 11－222101
「腫瘍抗原（lck）」

3) 2000－393047
「腫瘍抗原（IP-9）」

4) 2000－231814
「腫瘍抗原（Panc-1）」

5) 2000-345094
「細胞性免疫検出法」

6) 2000-304155
「肺癌細胞由来（11-18）」

7)「大腸癌細胞由来 HLA-A2 拘束腫瘍抗原」(予定)

8)「大腸癌細胞由来 HLA-B46 拘束腫瘍抗原」(予定)

9)「ペプチド脱感作療法」(予定)

10)「ペプチド特異的キラーT 細胞前駆体同定に基づくワクチン療法」(予定)

2．実用新案登録

特になし

3．その他

特になし

表1

H10-ゲノム-003等の援助のもとに同定されたヒト癌拒絶抗原遺伝子及び同ペプチド

（2001年3月10日現在）

HLA-拘束性	CTL株	癌cDNAライブラリー	癌拒絶抗原遺伝子		CTLにより認識されるエピトープ数	CTL誘導能を有するエピトープ数
A24	KE4-CTL	食道癌	5 種類	SART1, SART2	16	10
	（食道癌由来）			SART3, Lck, PI9		
A24	GK-CTL	膀胱癌	3 種類	CypB, ART1, ART	7	5
	（肺癌由来）	肺癌	7 種類		17	4 以上
A2	OK-CTL	膵癌	15 種類		40 以上	20 以上
	（大腸癌由来）	食道癌	2 種類	SART3, Lck	6	4
		大腸癌	40 種類以上		120 以上	（未同定）
		脳腫瘍	5 種類		10 以上	4
		膀胱癌	1 種類	CypB	3	2 以上
A26	KE4-CTL	食道癌	1 種類	SART1	3	1
B46	OK-CTL	大腸癌	16 種類		（未同定）	（未同定）
合　計			**80 種類以上**		**200 以上**	**50 以上**

表2

久留米大学にて実施された癌抗原ペプチドを用いた第Ｉ相臨床試験

（ 1999年7月 ～ 2001年2月 ）

	ペプチド	対象(HLA)	予定症例数（終了例）	プロトコール	有害事象（局所反応）	in vivo CTL誘導能	
						癌特異的CTL	ペプチド特異的CTL
1	SART1（1種類）	高度進行食道及び肺の扁平上皮癌（A24）	9例（4例）	IFAとともに0.3mg or 1mg or 3mg各々3症例（皮下3回、2週毎）（希望により4回目よりは追加のペプチド及びIL-2投与予定）	無	1/4症例	2/2症例
	SART3（2種類）	高度進行大腸癌及び乳癌（A24）	12例（12例）	IFAとともに0.3mg or 1mg or 3mg各々4症例（皮下3回、2週毎）（希望により4回目よりは追加のペプチド及びIL-2投与予定）	グレードⅠ（腫脹・発赤）（7/12例）	9/12症例	10/11症例
3	CyclophilinB（4種類）	高度進行肺癌（A24）	16例（16例）	1)IFAとともに非改変体2ペプチド：1mg or 3mg各々3症例 2)IFAとともに部分改変体2ペプチド：1mg or 3mg各々3症例（皮下3回、2週毎）（希望により4回目よりは追加のペプチド及びIL-2投与予定）	グレードⅠ（11/12例）	7/12症例	8/12症例
4	SART2（3種類）	再発婦人科扁平上皮癌（A24）	10例（2例）	IFAとともに1mg or 3mg各々5症例 （皮下3回、2週毎） ↓ 皮下6回投与しその翌日IL-2(35万u)点滴静注 （2週毎）	グレードⅠ（1/2例）	1/2症例	1/2症例
5	ART4（2種類）	扁平上皮癌を除く再発婦人科癌（A24）	10例（2例）	IFAとともに1mg or 3mg各々5症例 （皮下3回、2週毎） ↓ その翌日IL-2(35万u)点滴静注 （2週毎）	無	0/2症例	0/2症例
6	Lck（3種類）	Lck陽性癌を有する転移性上皮癌（A24）	10例（1例）	IFAとともに1mg or 3mg各々5症例 （皮下3回、2週毎）（希望により4回目よりは追加のペプチド及びIL-2投与予定）	グレードⅠ（1/1例）	1/1症例	1/1症例
7	SART1（1種類）	SART1$_{259}$陽性の高度進行癌（A26）	8例（0例）	IFAとともに1mg or 3mg各々4症例 （皮下3回、2週毎）（希望により4回目よりは追加のペプチド及びIL-2投与予定）	NT	NT	NT
合　計			75症例（37症例）			19/33 58%	22/30 73%

表３

ＣＴＬ前駆体同定に基づく癌ペプチドワクチン第１相臨床試験に用いられているペプチド

HLA-A24 peptide

SART1 690	EYRGFTQDF
SART2 93	DYSARWNEI
SART2 161	AYDFLYNYL
SART2 889	SYTRLFLIL
SART3 109	VYDYNCHVDL
SART3 315	AYIDFEMKI
Cyclophilin B84	KFHRVIKDF
Cyclophilin B91	DFMIQGGDF
lck 208	HYTNASDGL
lck 486	TFDYLRSVL
lck 488	DYLRSVLEDF
ART4 13	AFLRHAAL
ART4 75	DYPSLSATDI

HLA-A2 peptide

SART3 302	LLQAEAPRL
SART3 309	RLAEYQAYI
Cyclophilin B129	KLKHYGPGWV
Cyclophilin B172	VLEGMEVV
lck 246	KLVERLGAA
lck 422	DVWSFGILL
EIF4E-BP51	RIIYDRKFL
ppMAPkkk294	GLLFLHTRT
ppMAPkkk432	DLLSHAFFA
WHSC2 103	ASLDSDPWV
WHSC2 141	ILGELREKV
UBE2V43	RLQEWCSVI
UBE2V85	LIADFLSGL
UBE2V208	ILPRKHHRI
HNRPL141	ALVEFEDVL
HNRPL501	NVLHFFNAPL

表4

CTL precursor−oriented peptide vaccine 第Ⅰ相臨床試験

（ 2000年10月～ ）

1 **標題**：高度進行癌（肺癌、胃癌、大腸癌、婦人科癌及びその他の癌）症例に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法の第Ⅰ相試験（ 研究番号2031 ）

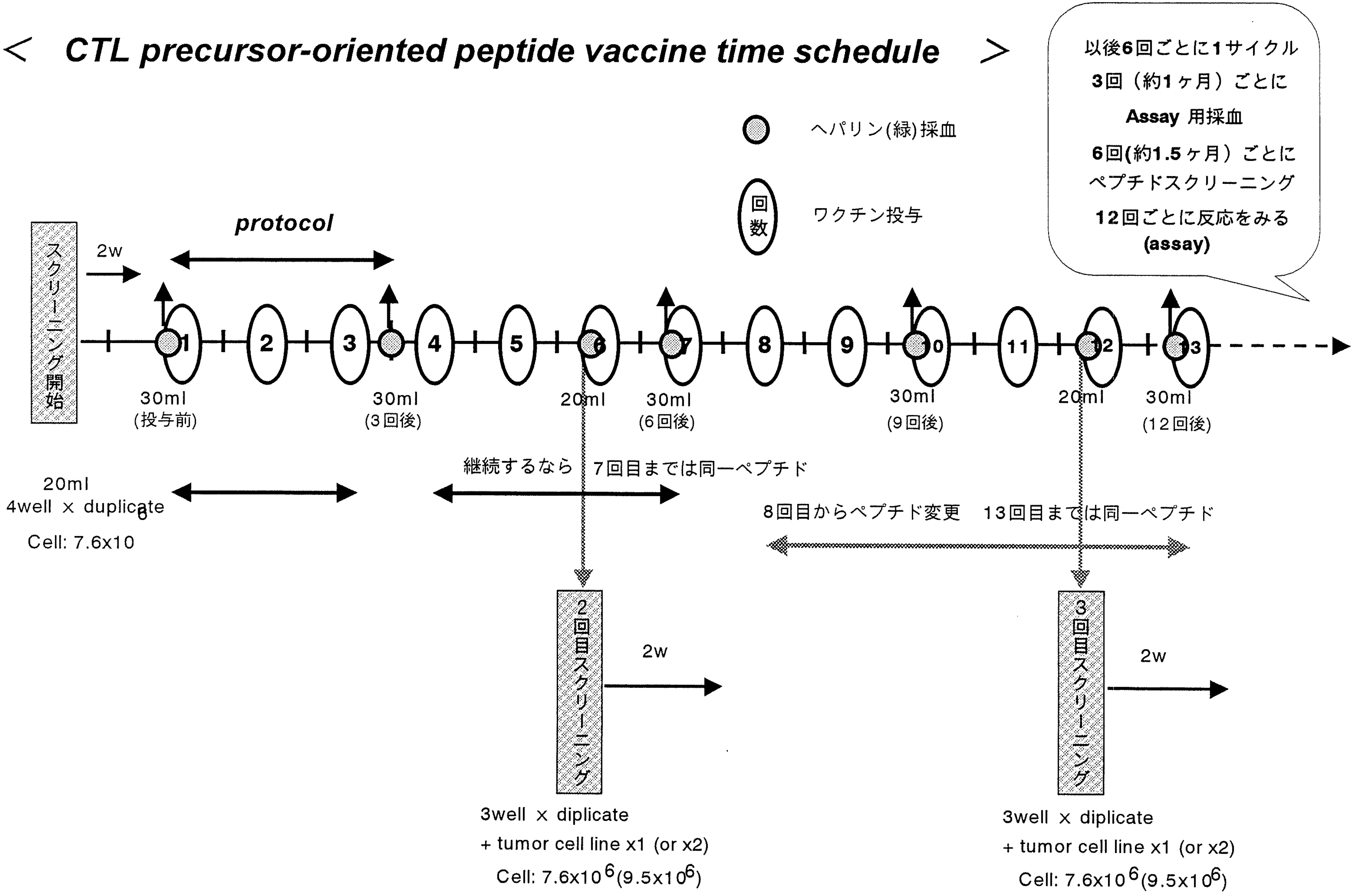
2 **実施計画**：HLA-A24もしくはHLA-A2陽性高度進行癌患者に別紙プロトコール並びに説明文を提示説明し、本研究への参加を同意した患者の末梢血単核球をin vitroで各種ペプチドワクチンで反応させ、反応性を認めたペプチドワクチンの中から良好なものを最大４種類選択し、各ペプチド３mgと不完全フロイントアジュバンドを別々に混和したペプチドワクチンを２週間隔で３回投与して本癌ワクチンの毒性/安全性評価とともにリンパ球の免疫反応性について新免疫検査定性法で検討し、今後の第Ⅱ相試験への可能性について評価する。

3 **実施状況**： 合計 22症例（HLA-A24:18症例, HLA-A2:4症例）　　2001年3月15日現在

症　例	投与ペプチド（3mg皮下投与）	有害事象
肺癌（1）	$SART3_{109}$ / $SART3_{315}$ / Lck_{208} / Lck_{486}	局所炎症反応（グレードⅠ）
肺癌（2）	Lck_{208} / Lck_{486}	局所炎症反応（グレードⅡ）
大腸癌（1）	$SART2_{93}$ / $SART3_{109}$ / $SART3_{315}$ / $CypB_{84}$	局所炎症反応（グレードⅠ）
大腸癌（2）	Lck_{488} / $ART1_{170}$ / $ART4_{13}$	局所炎症反応（グレードⅠ）
大腸癌（3）	$SART3_{109}$ / $SART3_{315}$ / Lck_{208}	局所炎症反応（グレードⅠ）
子宮頚癌（1）	$SART2_{161}$ / $SART2_{899}$ / Lck_{208} / $ART4_{75}$	局所炎症反応（グレードⅠ）
子宮体癌（1）	$SART1_{690}$ / $SART2_{93}$ / Lck_{208} / Lck_{486}	局所炎症反応（グレードⅠ）
子宮頚癌（2）	$SART1_{690}$ / $SART2_{899}$ / $SART3_{109}$ / $CypB_{91}$	局所炎症反応（グレードⅡ）
悪性黒色腫（1）	$SART2_{161}$ / $SART2_{899}$ / Lck_{486} / $CypB_{91}$	局所炎症反応（グレードⅠ）
悪性黒色腫（2）	$SART1_{690}$ / $SART3_{109}$ / $ART4_{75}$	局所炎症反応（グレードⅠ）
悪性黒色腫（3）	$SART2_{161}$ / $SART3_{109}$ / Lck_{486} / $ART4_{75}$	局所炎症反応（グレードⅡ）
甲状腺癌（1）	Lck_{488}	局所炎症反応（グレードⅡ）
食道癌（1）	$SART1_{690}$ / $SART3_{109}$ / $SART3_{315}$ / $ART4_{75}$	局所炎症反応（グレードⅡ）
前立腺癌（1）	$SART3_{109}$ / $SART3_{315}$ / Lck_{208} / Lck_{488}	無
その他のHLA-A24症例：肺癌（3），直腸癌（1），卵巣癌（1），乳癌（1）		
HLA-A2症例：肺癌（1），子宮頚癌（1），喉頭癌（1），前立腺癌（1）		

図 1

< *CTL precursor-oriented peptide vaccine time schedule* >



厚生科学研究費補助金（ヒトゲノム・再生医療等研究事業）
総括研究報告書

ヒト癌拒絶抗原遺伝子同定と癌ワクチン開発に関する研究

分担研究者　山名秀明　久留米大学医学部外科学講座教授

研究要旨　平成 12 年度は主としてペプチドワクチン第Ｉ相臨床試験を、主任研究者（伊東恭悟）と共同で同定した 11 種類の HLA-A24 拘束性ペプチド分子、2 種類の部分ペプチド及び 1 種類の HLA-A26 拘束性分子について実施しその多くを終了した。対象疾患症例は、インフォームドコンセントの文書確認のできた高度進行上皮癌（肺癌、大腸癌、食道癌、乳癌、子宮癌及び卵巣癌）症例である。本学倫理委員会にて承認を得た 8 つのプロトコールの元に実施されている。臨床研究は平成 11 年度から開始し、これまでに 33 症例において単独抗原由来ペプチドによる第Ｉ相臨床試験を終了した（表 2）。重篤な有害事象は全くなく、またペプチド投与により癌に対する CTL 増強が 65％の症例で得られた。また、ペプチド特異的 CTL 誘導は 82％の症例で得られた。さらにそれらの成果に基づいて、第 2 世代としての CTL precursor-oriented peptide vaccine 第Ｉ相臨床試験を現在までに 14 症例にて実施中である（図 1，表 3，表 4）。

A．研究目的

本研究の主目的は、ヒト HLA 拘束性癌特異的 CTL 株を作製し、それの認識する癌拒絶抗原遺伝子をクローニングし、上皮性癌患者に対して臨床応用可能な腫瘍特異免疫療法の標的分子を開発することである。分担研究者（山名秀明）は、主として癌ワクチン開発の研究、即ち本研究にて同定されたペプチド分子による臨床第Ｉ相試験を担当する。本邦において多発する癌、即ち肺癌、消化管癌（食道癌、胃癌、大腸癌）、肝癌、頭頚部癌、乳癌、子宮癌、卵巣癌、腎癌及び白血病を主な対象とし、組織型としてはそれらの大部分を占める扁平上皮癌及び腺癌に絞って研究する。上皮性癌は、我が国における成人悪性腫瘍の大半を占めるのみでなく、世界に最も頻発する癌である。また、HLA としては本邦でも発現頻度の高い HLA-A24（癌患者の 6 割）、HLA-A2（約 4 割）、及び HLA-A26(約 2 割)抗原拘束性の CTL 認識性癌退縮抗原の同定を目指す。上記 HLA アレールは、人種を超えて広く認められる。従って、本研究により癌拒絶抗原遺伝子が同定され宿主によって認識されるペプチド抗原分子機構解明に大きく貢献するものと考えられる。さらに本研究で開発された癌ワクチンが臨床応用さらた場合、世界レベルで上皮性癌特異免疫療法として活用されるものと考えられる。

B．研究方法

1）ヒト癌拒絶抗原遺伝子及びペプチド同定については、主任研究者（伊東恭悟）の報告書を参照されたし。

2）癌ワクチン開発（臨床研究）：HLA 拘束性 CTL 誘導可能なペプチド分子については、GMP グレード（臨床応用可能）のペプチドを米国 MPS 社に依頼し、2ｇ購入し、微生物混合の無いこと、細胞毒性の無いこと及びアミノ酸シークエンスの再確認（本邦の会社に外注）後に、不完全フロインドアジュバンド（montanide ISA-51）と共に皮下投与する臨床第Ｉ相試験を開始した。2 週間隔にて 3 回皮下投与し、投与後 7 日目の観察をもってプロトコールは終了する。個々のプロトコールについては、本学倫理委員会にて審査を受け承認されたものに限って開始した。エンドポイントは、有害事象の有無及び CTL 誘導能の有無である。有害事象の判定は、JCOG の毒性判断基準に従った。CTL 誘導能の有無は、CTL precursor frequency analysis を主として採用し、癌特異性及びペプチド特異性の両者を算出し、細胞性免疫の定量化を行った（表 2）。また、従来通りの IFNγ産生能や ^{51}Cr 遊離法によるアッセイも併用した。

3）さらに平成 12 年度からはペプチド特異的 CTL 前駆体をワクチン投与前に決定し、該当するペプチドのみを投与する CTL precursor-oriented peptide vaccine を開始した（図 1，表 3，表 4）。

（倫理面への配慮）

1）本研究は「ヒトのクローンに関する研究等」に該当するおそれは全くないと判断される。in vitro にて癌特異的 CTL を誘導する目的にて採血する場合は、本分担研究者の山名及び他の研究協力医が直接患者に充分時間をとってその目的を説明し、理解と同意の得られた場合に限って 15～30ml 採血して

研究に供している。
2) 第Ⅰ相臨床試験についての配慮点：本学内での倫理委員会での審査を経て、これまで７つの臨床試験を実施した（表 2A)。試験毎に専任の臨床研究コーディネーター（有医師資格の本学助手）が、被験者から自由意志による十分な説明を受けた上での同意（インフォームド・コンセント）を得て常時実施した。現在進行中の CTL precursor-oriented peptide vaccine の第Ⅰ相臨床試験においては、専任の臨床研究コーディネーターの他にデータマネージャー及び臨床試験看護婦の参加をえて、臨床研究の充実と患者や家族への十分な対応が可及的にできる体制をひいている。

C. 研究結果

安全性と CTL 誘導能の有無を主目的として、HLA-A24、-A2 もしくは-A26 陽性高度進行上皮性癌患者を対象に 7 つの異なる第Ⅰ相臨床試験を久留米大学医学部附属病院にて実施した（表 2A)。これまでの解析では、投与したペプチドによる有害事象は局所の発赤、腫脹以外認められていない。また、癌細胞及び投与ペプチドに対して特異的認識を示す CTL が殆どの症例においてペプチド投与後増加（もしくは誘導）していることが確認された(表 2A)。さらに、平成 12 年 10 月からは、患者末梢血のペプチド特異的 CTL 前駆体を確認しての CTL precursor-oriented peptide vaccine をより有効な癌ワクチンとして HLA-A24 及び-A2 の各種癌患者に対して第Ⅰ相臨床試験として実施中である（図 1, 表３，表４)。

D. 考察

いずれのペプチドワクチンにおいても安全性が確認され且つ CTL 誘導能も癌細胞及びペプチドに対して認められた。一方において、本臨床試験を通じて SART-$3_{315\text{-}323}$ 及びサイクロフィリン $B_{84\text{-}92}$ ペプチドについては投与前から皮内反応陽性であることが新たに判明した。HLA-A24 陽性の健康人では、これらの皮内反応は多く認められないことから、癌患者に選択的な現象と判断される。SART-$3_{315\text{-}323}$ 及びサイクロフィリン $B_{84\text{-}92}$ ペプチドも in vitro の解析より major epitope と判断さることより、ワクチンとして使用できないのであれば大きな障壁となる。今後、本現象の基礎的解析が必要となる。

E. 結論

7 つの異なるペプチドワクチン第Ⅰ相臨床試験を開始し、その安全性を確立し、また CTL 誘導能の有無を明らかにした（表 2)。簡便なペプチド特異的 CTL 前駆体の同定法を開発した。第 2 世代の CTL precursor-oriented peptide vaccine を平成 12 年より開始した（表 3, 表 4)。

F. 健康危険情報

平成 11 年度から実施したペプチドワクチン第Ⅰ相臨床試験は、33 名の高度進行上皮癌患者に対して実施された（表 2)。有害事象／薬物有害反応としては、ワクチン投与部位の発赤、腫脹（グレードⅠ）が約 80％において認められた。それらに対しての投薬、その他の医療処置は必要なく、また上記の有害事象以外は認められなかった。一方、平成 12 年 10 月から開始したＣＴＬ前駆体同定に基づくペプチドワクチン第Ⅰ相臨床試験は、平成 13 年度 3 月 1 日現在で高度進行癌患者 18 名に対して実施中である。有害事象としては、5 名においてワクチン投与部位の発赤、腫脹（グレードⅠ）が認められ、3 名においては発赤、腫脹の他に硬結及び疼痛（グレードⅡ）が認められた（表 4)。グレードⅡの局所炎症反応に対して抗ヒスタミン軟膏の塗布を必要とした。それ以外の有害事象は認められていない。以上より、重篤な健康危険を疑わせる有害事象／薬物有害反応はワクチン投与により生じていないと判断される。

G. 研究発表

1. 論文発表

1-1.論文発表（英文査読誌掲載論文）

1. Inoue Y, Nakao M, Matsunaga K, Kikuchi M, Gomi S, Toh U, Takamori S, Yamana H, Itoh K:Induction of human leukocyte antigen-A26-restricted and tumor-specific cytotoxic T lymphocytes by a single peptide of the SART1 antigen in patients with cancer with different A26 subtypes. J Immunotherapy 23(3):269-303, 2000.

2. Mine T, Harada K, Matsumoto T, Yamana H, Shirouzu K, Itoh K, Yamada A: CDw108 expression during T-cell development. Tissue Antigens 55: 429-436, 2000.

3. Kihara C, Seki T, Furukawa Y, Yamana H, Kimura Y, van Schaardenburgh P, Hirata K, Nakamura Y: Mutations in Zink-binding

domains of p53 as a prognostic marker of esophageal-cancer patients. Jpn J Cancer Res 91: 190-198, 2000.

4. Mori K, Hasegawa M, Nishida M, Toma H, Fukuda M, Kubota T, Nagasue N, Yamana H, Hirakawa K, Ikeda T, Takasaki K, Oka M, Kameyama M, Toi M, Fujii H, Kitamura M, Murai M, Sasaki H, Ozono S, Makuuchi H, Ogawa M, Nakao A, Kinoshita H, Tono T, Imamoto H, Nakashima Y, Manabe T : Expression levels of thymidine phosphorylase and duhydropyrimidine dehydrogenase in various human tumor tissues. Int J Oncolo 17: 33-38, 2000.

5. Ishibashi M, Fujii T, Yamana H, Fujimoto K, Rikimaru T, Hayashi A, Kurata S, Hayabuchi N: Relationship between cancer cell proliferation and thallium-201 uptake in lung cancer.Ann. Nuclear Med. 14:255-261, 2000.

6. Sueyoshi S, Yamana H, Fujita H, Tanaka T, Toh U, Kubota M, Tanaka Y, Mine T, Sasahara H, Shirouzu K : Radical esophagectomy and Secondary anastomosis for high-risk patients with intrethoracic esophageal carcinoma. Jpn Assoc Thorac Surg 48(11): 683-687, 2000.

7. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Tanaka T, Niiya F, Katagiri K, Fujita H, Shirouzu K, Itoh K: Locoregional cellular immunotherapy for patients with advanced esophageal cancer. Clin Cancer Res 6: 4663-4673, 2000.

8. Nakao M, Shichijo S, Imaizumi T, Inoue Y, Matsunaga K, Yamada A, Kikuchi M, Tsuda N, Ohta K, Takamori S, Yamana H, Fujita H, Itoh K : Identification of a gene coding for a new squamous cell carcinoma antigen recognized by the CTL. J Immunol 164:2565-2574, 2000.

9. Niiya F, Nishizaki S, Matsunaga K, Koufuji K, Mori M, Katai H, Yamana H, Itoh K : Expression of SART3 tumor-rejection antigen in gastric cancers. Jpn J Cancer Res 91: 337-342, 2000.

10. Fujii T, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Tanaka Y, Kubota M, Toh U, Mine T, Sasahara H, Shirouzu K, Kato S, Morimatsu M : Histopathological analysis of non-malignant and malignant epithelium in achalasia of the esophagus. Diseases of the Esophagus 13: 110-116, 2000.

11. Sasatomi T, Yamana H, Shichijo S, Tanaka S, Okamura T, Ogata Y, Itoh K, Shirouzu K : Expression of the SART1 tumor rejection antigens in colorectal cancers. Dis Colon Rectum 43(12): 1754-1758, 2000.

12. Fujii T, Kato S, Yamana H, Tanaka Y, Fujita H, Shirouzu K, Morimatsu M: Expression of G1 cell cycle markers and the effect of adenovirus-mediated overexpression of p21 Waf-1 in squamous cell carinoma of the esophagus. Int J Oncol 18: 157-163, 2001.

13. Harashima, N,. Tanaka, K., Sasadomi, T., Locoregional, Y., Miyagi, Y., Yamada, A., Tamura, M., Yamana, H., Itoh., K., Shichijo, S.: Recognition of the Lck tyrosine kinase as a tumor antigen by T cells of metastatic cancer patients. Eur. J. Immunol. 31:323-32.2001.

1-2. 論文発表（レビュー・其の他）

1. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Kubota H, Sasahara H, Shirouzu K, Itoh K : Specific adoptive immunotherapy with autologous tumor cell-activated lymphocytes for esophageal cancer. Biotherapy 14(1): 26-28, 2000.

1-3. 論文発表（和文）

1. 山名秀明、末吉　晋、藤田博正、掛川暉夫：胸部下部･腹部食道癌に対する所属リンパ節郭清術。外科　62(7): 777-782, 2000.

2. 孝冨士喜久生、武田仁良、青柳慶史朗、矢野正二郎、村上直孝、寺崎泰宏、末吉　晋、山名秀明、藤田博正、白水和雄：下部食道胃接合部癌の検討-腺癌と扁平上皮癌の比較－。　臨牀と研究 77(12): 2314-2316, 2000.

1-4. 論文発表（和文レビュー・其の他）

1. 伊東恭悟，七條茂樹，山名秀明：上皮性癌ワクチン分子の同定と臨床応用．組織培養工学 27(1): 13-17, 2000.

2. 山名秀明，伊東恭悟：がんペプチドワクチン臨床試験のガイドラインについての提案．分子細胞治療 1(1): 89-95, 2000.

3. 藤田博正，末吉　晋，山名秀明，白水和雄：左開胸開腹下部食道噴門切除・胸腔内胃管再建術．55(2): 231-240, 2000.

4. 山名秀明，伊東恭悟：扁平上皮癌抗原 SART を標的とした免疫療法。血液･免疫･腫瘍 5(2): 167-172, 2000.

5. 山名秀明，唐　宇飛，伊東恭悟：進行食道癌に対する免疫療法。　消化器外科　23(6):1029-1036, 2000.

6. 山名秀明：Immunoguided Surgery. 日外会誌 101(9): 602-606, 2000.

7. 山名秀明，伊東恭悟：癌ワクチン。　癌と化学療法　27(10): 1477-1488, 2000.

8. 伊東恭悟，五味慎也，七條茂樹，山名秀明：ヒト上皮性腫瘍の抗原ペプチドと遺伝子。　現代医療 32(5):1081-1088, 2000.

9. 藤田博正，末吉　晋，山名秀明，白水和雄：食道癌切除後の再建経路．外科 62(1): 14-16, 2000.

10. 藤田博正，末吉　晋，山名秀明，白水和雄：左開胸開腹下部食道噴門切除・胸腔内胃管再建術。臨床外科　55(2): 231-240, 2000.

11. 藤田博正，末吉　晋，山名秀明，白水和雄，森一功、井上要二郎：頸部食道癌の標準的リンパ節郭清術。　手術　54(5): 605-612, 2000.

12. 藤田博正，末吉　晋，平城　守，林　明宏，山名秀明，白水和雄，内田政史，河原邦夫：食道癌の術前進行度診断。　外科　62(5): 497-504, 2000

13. 藤田博正，末吉　晋，田中寿明，唐　宇飛，吉田祥吾，石橋生哉，山名秀明，白水和雄：食道手術における器械縫合・吻合の実技とコツ。　消化器外科　23(10): 1515-1524, 2000.

14. 唐　宇飛，山名秀明，白水和雄，伊東恭悟：進行癌に対する自己活性化リンパ球の癌局所移入療法。医学のあゆみ　195(1): 62-66, 2000.

15. 藤田博正，末吉　晋，田中寿明，唐　宇飛，峯孝志，笹原弘子，白水和雄，山名秀明，戸田幸博，早渕尚文：他臓器浸潤（Ｔ４）食道癌に対する Chemoradiotherapy の新展開。　癌と化学療法 27(13): 2016-2022, 2000.

2．学会発表

2-1　海外発表

The 91st Annual Meeting of the AACR (2000.04.01-04:San Francisco)

1. Sasatomi T, Miyagi Y, Yang D, Yamana H, Ogata Y, Shirouzu K:Expression of the tumor-rejection antigen SART3 in colorectal cancers

2. Toh U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Shirouzu K: Endoscopic intra- and peritumoral injection of autologous tumor-activated T cells for specific adoptive immunotherapy of esophageal cancer.

The 10th Congress of the European Society of Surgical Oncology (2000.04.05-08: Groningen)

3. Tou U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Shirouzu K, Itoh K : Specific adoptive immunotherapy of esophageal cancer with endoscopic intratumoral injection of autologous tumor-activated T cells

The 36th Annual Meeting of the ASCO (2000.05.20-23:New Orleans)

4. Tou U, Yamana H, Sueyoshi S, Fujita H, Isomoto H, Shirouzu K, Itoh K : immunotherapy of esophageal cancer patients through an endoscope.

2-2 国内発表

第15回 日本静脈経腸栄養学会(2000.02.03:滋賀)
5. 酒井真理, 野上陽子, 山浦ユリ, 富野裕子, 久富瑞穂, 吉田祥吾, 田尻鉄郎, 藤田博正, 末吉 晋, 山名秀明、白水和雄:食道癌根治術における胸管結紮が術後経腸栄養の腹部症状に及ぼす影響について

第100回 日本外科学会総会(2000.04.12-14:東京)
6. 疋田茂樹, 藤田博正, 山名秀明, 末吉 晋, 白水和雄, 田中芳明, 溝手博義:耐糖能異常合併例の術前術後管理

7. 笹富輝男, 宮城佳昭, 唐 宇飛, 新谷文彦, 山名秀明, 緒方 裕, 白水和雄, 伊東恭悟:ヒト大腸癌組織における癌拒絶抗原 SART-1および SART-3の発現

8. 田中優一, 山名秀明, 峯孝志, 笹原弘子, 久保田雅博, 唐 宇飛, 末吉 晋, 藤田博正, 白水和雄:GeneGun を用いた癌抑制遺伝子P21の導入による抗腫瘍効果の検討

9. 久保田雅博, 山名秀明, 末吉 晋, 唐 宇飛, 田中優一, 峯孝志, 笹原弘子, 藤田博正, 白水和雄:食道癌におけるテロメラーゼ活性・触媒サブユニットの発現と臨床的意義に関する検討

10. 唐 宇飛, 山名秀明, 古賀稔啓, 新谷文彦, 藤田博正, 末吉 晋, 久保田雅博, 田中優一, 田中寿明, 峯孝志, 白水和雄:進行食道癌患者末梢血由来リンパ球の培養状況からみた adoptive immunotherapy の適応に関する検討

11. 山名秀明, 笹富輝男, 宮城佳昭, 唐 宇飛, 白水和雄, 伊東恭悟:転移性癌患者における HLA-A２４拘束性１CK 由来ペプチドを用いた細胞傷害性Ｔ細胞の誘導と機能解析

12. 藤田博正, 末吉 晋, 山名秀明, 唐 宇飛, 田中優一, 峯孝志, 久保田雅博, 白水和雄:胸部食道癌に対する頸部上縦隔リンパ節郭清術の根治性と合併症

第28回 日本血管外科学会学術総会 (2000.05.18:東京)
13. 笹原弘子, 末吉晋, 山名秀明, 藤田博正, 久保田雅博, 白水和雄:大動脈浸潤食道癌における血管内ステントグラフトの有用性に関する実験的研究

第55回日本消化器外科学会総会(2000.07.20-22:宮崎)
14. 田中寿明, Mesnil Marc, 山名秀明, 藤田博正, 末吉 晋, 白水和雄, Yamasaki Hiroshi : Gap junction 蛋白(connexin)遺伝子を用いた癌遺伝子治療

15. 久保田雅博, 末吉 晋, 山名秀明, 唐 宇飛, 田中寿明, 峯孝志, 笹原弘子, 田中優一, 藤田博正, 白水和雄:食道表在癌に対する光線力学療法(PDT)の検討

16. 唐 宇飛, 山名秀明, 末吉 晋, 新谷文彦, 田中寿明, 久保田雅博, 峯孝志, 笹原弘子, 藤田博正, 白水和雄:食道癌患者自己 CTL 癌局注による特異的養子免疫療法後の末梢血リンパ球に対するクローニングとその解析

17. 末吉 晋, 山名秀明, 藤田博正, 田中寿明, 唐 宇飛, 笹原弘子, 久保田雅博, 田中優一, 峯孝志, 白水和雄:食道癌手術における自己血輸血の検討

第59回日本癌学会総会(2000.10.04-6:横浜)
18. 唐 宇飛, 山名秀明, 田中寿明, 白水和雄, 伊東恭悟:進行食道癌に対する細胞免疫療法

19. 宮城佳昭, 笹富輝男, 唐 宇飛, 緒方 裕, 古賀稔啓, 山名秀明, 藤田博正, 松永和子, 今井伸恵, 伊東恭悟, 白水和雄:高度進行大腸癌を対象とした SART-3 ペプチドワクチンによる CTL 前駆体の変動

20. 田中寿明, メスニル・マーク, 山名秀明, 白水和雄, 山崎洋:Gap junction 蛋白陽性細胞、陰性細胞間における細胞間 commumnication と bystander 効果

第38回日本癌治療学会総会(2000.10.22-24:仙台)
21. 笹富輝男, 宮城佳昭, 唐 宇飛, 緒方 裕, 荒木靖三, 山名秀明, 伊東恭悟, 白水和雄:大腸癌を対象とした SART－3 ペプチドワクチンによる癌特異的免疫療法の試み

第53回日本胸部外科学会総会(2000.10.25-27:大分)
22. 笹原弘子, 末吉 晋, 山名秀明, 藤田博正, 唐 宇飛, 久保田雅博, 田中寿明, 峯孝志, 青柳成明, 白水

和雄:大動脈浸潤食道癌における血管内ステントグラフトの有用性に関する実験的研究

23. 末吉　晋, 藤田博正, 山名秀明, 田中寿明, 唐　宇飛, 笹原弘子, 的野　吾, 青柳成明, 白水和雄:頸胸境界部食道癌に対する胸骨部分縦切開喉頭温存頸部食道切除

24. 藤田博正, 末吉　晋, 山名秀明, 田中寿明, 唐　宇飛, 峯孝志, 笹原弘子, 白水和雄:頸胸境界部食道に対する(喉頭)近位食道切除術

第 62 回日本臨床外科学会総会(2000.11.16-18:名古屋)

25. 田中寿明, Mesnil Marc, 山名秀明, 藤田博正, 末吉　晋, 白水和雄, Yamasaki Hiroshi: Connexi 遺伝子を用いた癌遺伝子治療における bystander effect 増強効果

26. 唐　宇飛, 山名秀明, 末吉　晋, 田中寿明, 峯孝志, 笹富輝男, 宮城佳昭, 藤田博正, 白水和雄:固形癌に対する癌免疫療法の展望

27. 末吉　晋, 山名秀明, 田中寿明, 唐　宇飛, 久保田雅博, 笹原弘子, 藤田博正, 白水和雄:食道癌手術における自己血貯血の意義

28. 的野　吾, 末吉　晋, 山名秀明, 唐　宇飛, 田中寿明, 久保田雅博, 峯孝志, 笹原弘子, 青柳慶史朗, 藤田博正, 白水和雄:胃管潰瘍経過中に発見された胃管癌の1例

第 13 回日本バイオセラピイ学会学術総会(2000.12.06-07:京都)

29. 峯孝志, 山名秀明, 唐　宇飛, 今井伸恵, 檜田直也, 白水和雄, 伊東恭悟:癌ペプチドワクチン第1相試験の中間解析

30. 唐　宇飛, 山名秀明, 林　明宏, 高森信三, 松尾敏弘, 笹富輝男, 峯孝志, 白水和雄, 伊東恭悟:肺癌癌性胸・腹水に対する自己 TIL による免疫療法を行った5症例

G．知的所有権の所得状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし