

誘導シグナリング。

第61回日本癌学会総会(2002.10.01-03, 東京)

139. 唐 宇飛、Sayers TJ、関 直子、中尾真修、白水和雄、山名秀明:ヒト腫瘍細胞株のアポトーシスに関するプロテアソーム阻害薬(PS-341)とTRAILの相乗効果  
第61回日本癌学会総会(2002.10.01-03, 東京)

140. 佐藤裕二、前田好章、正村裕紀、宇根良衛、高橋昌宏、近藤正男、高橋周作、山名秀明、伊藤恭悟、藤堂省:胃癌、大腸癌に対するPrecursor-oriented peptideワクチン療法。  
第40回日本癌治療学会総会(シンポジウム)  
(2002.10.16-18, 東京)

141. 日月裕司、井手博子、宇田川晴司、小澤壮治、斉藤貴生、篠田雅幸、田中乙雄、松原久裕、山名秀明:臓器がん登録の成績:食道がん。  
第40回日本癌治療学会総会(指定シンポジウム)  
(2002.10.16-18, 東京)

142. 木戸浩一郎、唐 宇飛、Sayers T.J, 吉田祥吾、白水和雄、山名秀明:プロテアソーム阻害薬(PS-341)によりヒト腫瘍細胞株に対するTRAIL細胞障害性の増強効果。  
第40回日本癌治療学会総会(2002.10.16-18, 東京)

143. 唐 宇飛、田中寿明、主藤朝也、末吉 晋、木戸浩一郎、藤田博正、白水和雄、山名秀明:癌患者自己培養リンパ球活性に対するCD4+CD25+T細胞分画の影響。  
第40回日本癌治療学会総会(プレナリーセッション)  
(2002.10.16-18, 東京)

144. 野口正典、末金茂高、富安克郎、山田 亮、山名秀明、伊東恭悟、野田進士:再燃前立腺癌への癌ペプチドワクチンと抗癌剤併用療法の試み。  
第40回日本癌治療学会総会(プレナリーセッション)  
(2002.10.16-18, 東京)

145. 峯 孝志、山名秀明、武田仁良、田中寿明、青柳慶史朗、考富士喜久生、末吉 晋、藤田博正、白水和雄:進行/再発胃癌に対するTXL,S-1による第I相臨床試験。  
第40回日本癌治療学会総会(2002.10.16-18, 東京)

146. 田中寿明、末吉 晋、笹原弘子、唐 宇飛、山名秀明、藤田博正、白水和雄:食道癌に対するDocetaxel, CDDP, 5-FUを用いた化学療法。  
第40回日本癌治療学会総会(2002.10.16-18, 東京)

147. 笹原弘子、田中寿明、末吉 晋、唐 宇飛、藤田博正、山名秀明、白水和雄:Docetaxel, CDDP, 5-FU化学療法が著効した大動脈周囲リンパ節転移を伴う食道癌の1例。  
第40回日本癌治療学会総会(2002.10.16-18, 東京)

148. 笹富輝男、的野敬子、金澤昌満、石橋生哉、荒木靖三、緒方 裕、山名秀明、伊東恭悟、白水和雄:術後再発大腸癌に対するCTL precursor oriented cancer vaccine therapy 臨床第一相試験。  
第40回日本癌治療学会総会(2002.10.16-18, 東京)

149. 伊東恭悟、峯 孝志、山名秀明、佐藤裕二、藤堂省、岡 正朗:上皮性癌ペプチドワクチンの臨床試験:第一相から第二相へ。  
第15回日本バイオセラピー学会学術集会総会(特別講演)(2002.11.06-08, 札幌)

150. 木戸浩一郎、唐 宇飛、Sayers T.J, 白水和雄、山名秀明:プロテアソーム阻害薬(PS-341)のヒト腫瘍細胞株に対するTRAIL細胞傷害性の増強効果。  
第15回日本バイオセラピー学会学術集会総会  
(2002.11.06-08, 札幌)

151. 唐 宇飛、山名秀明、木戸浩一郎、谷川啓司、白水和雄:CD4CD25+T細胞及びTGF- $\beta$ による培養リンパ球活性の抑制を考慮した癌細胞免疫療法。  
第15回日本バイオセラピー学会学術集会総会(ワークショップ)(2002.11.06-08, 札幌)

152. 正村裕紀、佐藤裕二、前田好章、近藤正男、高橋周作、矢吹英彦、山名秀明、伊東恭悟、藤堂 省:Precursor-oriented peptideワクチンが有効であった進行腎細胞癌の1例。  
第15回日本バイオセラピー学会学術集会総会(ワークショップ)(2002.11.06-08, 札幌)

153. 木戸浩一郎、唐 宇飛、堀内彦之、平城 守、白水和雄、山名秀明:リザーバー動注による転移性肝腫瘍の局所細胞免疫治療。  
第64回日本臨床外科学会総会(2002.11.13-15, 東京)

154. 末吉 晋、藤田博正、田中寿明、笹原弘子、的野吾、峯 孝志、主藤朝也、唐 宇飛、山名秀明、白水和雄:胸部食道癌標準術式としてのHALSの導入。第64回日本臨床外科学会総会(ビデオセッション)  
(2002.11.13-15, 東京)

155. 唐 宇飛、考富士喜久生、白水和雄、山名秀明、足達 剛:低分化胃腺癌骨転移と癌性胸水にTS-1と自

己活性化リンパ球による細胞免疫療法を併用した1症例。

第64回日本臨床外科学会総会(2002.11.13-15, 東京)

156. Toh U, Sayers TJ, Seki N, Shirouzu K, Yamana H :The synergy effects of proteasome inhibitor PS-341 and TRAIL on the apoptosis of human tumor cells.

The 18<sup>th</sup> UICC International Cancer Congress , Oslo, June 30-July 5, 2002.

157. 峯 孝志、山名秀明、武田仁良、青柳慶史朗、田中寿明、孝富士喜久生、末吉 晋、藤田博正、白水和雄:高度進行胃癌症例に対するTXL & S-1療法第1相臨床試験。

第75回日本胃癌学会総会(2003.02.07-08, 東京)

B. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

【 伊東恭悟 主任研究者 】

① 細胞性免疫検出法およびその医薬への応用:

PCT/JP02/06298 (2002.6.24)

特開2002-365286 (2002.12.18)

② 前立腺癌マーカー由来A24拘束性腫瘍抗原ペプチド:

PCT/JP02/12893 (2002.12.10)

③ 大腸癌(SW620)由来A31拘束性腫瘍抗原:

特願2002-126764 (2002/4/26)

④ 肺腺癌由来(11-18細胞)由来のB52&B62拘束

性腫瘍抗原: 特願2002-286676 (2002/9/30)

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

本研究で同定した遺伝子およびペプチドは特許取得申請中(申請者:伊東恭悟 主任研究者)

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)  
分担研究報告書

膵癌ペプチドワクチンの臨床研究に関する研究

分担研究者 岡 正朗 山口大学医学部教授

研究要旨:「癌治療ペプチドワクチン及びペプチド抗体開発:遺伝子同定から臨床試験まで(14200101)」の分担研究として、高度進行膵癌患者を対象に、HLA-A24及びA2癌ペプチドワクチン第I相臨床試験を施行した。対象はHLA-A24陽性患者9例、HLA-A2陽性患者1例の計10例の高度進行膵癌であり、3回投与終了後に安全性と臨床効果を判定した。本療法の安全性に関しては、重篤な副作用を認めなかった。臨床効果については、NC3例、PD7例であった。NC症例の内訳は腹腔内リンパ節再発2例、腹腔内リンパ節再発および骨転移1例であった。予後に関しては、最低3ヶ月で死亡したが、NCの1症例は14ヶ月生存中であり、継続投与を行っている。

以上より、癌ペプチドワクチン療法の安全性は確認され、臨床効果に関しては、後腹膜リンパ節転移に対して効果を認めた。

A. 研究目的

悪性腫瘍は世界で800万人以上が罹患しており、また、我が国の国民死亡原因の第1位を占め国民の最も関心の高い疾患である。本研究は「癌治療ペプチドワクチン及びペプチド抗体開発:遺伝子同定から臨床試験まで(14200101)」の分担研究として、高度進行膵癌患者を対象に、HLA-A24及びA2癌ペプチドワクチン第I相臨床試験を終了させ、本研究で開発された癌ペプチドワクチンとペプチド抗体が臨床応用されることを目的とする。

B. 研究方法

臨床試験はHLA-A24もしくはHLA-A2陽性で本研究への参加を同意した切除不能・再発膵癌症例に対し、HLA-A24症例においては14種類の、HLA-A2症例においては16種類の癌ペプチドワクチンの中から新細胞性免疫定性法にて良好な反応性を認めたものを最大4種類選択した。まず皮内反応試験を行い、即時性アレルギー反応のないことを確認した後に、各ペプチド3mgと不完全フロイントアジュバント(Montanide ISA-51)を混和したペプチドワクチンを大腿部皮下深部組織内に注射投与した。2週間間隔で3回投与し、投与部位は毎回前回の反対側とし、患者の希望があれば追加投与した。3回投与後に本療法の毒性・安全性を評価するとともに臨床効果や免疫反応性について検討した。対象はHLA-A24陽性患者9例、HLA-A2陽性患者1例の計10例で、切除不能5例と再発5例(腹腔内リンパ節再発2例、腹腔内リンパ節再発と骨転移1例、局所再発と肝転移1例、局所再発と肝転移および腹膜播種1例)であった。(倫理面への配慮)本臨床試験においては、山口大学審査委員会での審査承認を得たのち、当該研究分担

者(医師)が被験者から文書での十分な説明を受けた上での自由意志による同意(インフォームド・コンセント)を得て実施している。

C. 研究結果

本療法の毒性・安全性に関しては、局所発赤・腫脹が7例で全てgrade Iであり、発熱が7例と全てgrade II以下、grade Iの食欲不振を2例に認めた以外は副作用を認めず、安全性が確かめられた。なお、ペプチド投与回数が増加すると、大腿部皮下の左右交互に投与したにも関わらず、投与反対側の前回投与部位に発赤を認めたことから、ペプチドに対する免疫が成立していることが強く示唆された。

臨床効果については、3回投与終了後NC3例、PD7例であった。NC症例の内訳は腹腔内リンパ節再発2例、腹腔内リンパ節再発および骨転移1例であった。予後に関しては、最低3ヶ月で死亡したが、NCの1症例は14ヶ月生存中であり、継続投与を行っている。

免疫反応に関しては、CTL誘導能と抗体誘導能を検討した。CTL(細胞傷害性Tリンパ球)誘導を7例に行い、2例で投与ペプチドに対する明らかなCTLが誘導された。抗体価は9例で測定し、5例で投与ペプチドに対する抗体が血中に観察された。

D. 考察

HLA-A24およびA02の高度進行膵癌を対象とした癌ペプチドワクチン第I相試験は毒性を認めず終了し、本療法は安全に施行できると考えられる。臨床効果に関してCR症例は得られなかったものの、後腹膜リンパ節転移3症例においてはNCが得られており、うち1例において14ヶ月生存中の症例が得られている。本症例は、

long NCの状態であり、膵癌の予後を考えると、ペプチド療法には延命効果があると考えられる。これらNC症例における臨床効果の機序として、癌ペプチドワクチン投与が大腿部皮下に行われ、リンパの流れから投与されたペプチドは後腹膜沿いのリンパ管から、後腹膜リンパ節に到達し、同部の抗原提示細胞に取り込まれ、CTLを誘導して抗腫瘍活性が増強されたと考えられる。

免疫反応では、癌ペプチドワクチン投与回数が増加すると、左右の大腿部皮下に交互に投与したにもかかわらず、投与反対側の前回投与部位に発赤を認めたことから、ペプチドに対する細胞性免疫が成立していることが強く示唆された。

#### E. 結論

癌ペプチドワクチン療法の安全性は確認された。臨床効果に関しては、後腹膜リンパ節転移に対して効果を認めた。既に、膵癌に対する細胞療法が肝転移には有効であることを観察していることから、後腹膜局所に対して癌ペプチドワクチン療法を併用する意義が予想され、HLA-A24及びA2の患者では癌ペプチドワクチン療法にCTLや樹状細胞を併用した癌ワクチン細胞療法を検討する予定である。

#### F. 健康危険情報

癌ペプチドワクチンによる副作用としては、局所の発赤、腫脹、接種後の発熱や食欲不振を認めたが、いずれもgrade II以下で重篤な有害事象は認めなかった。

#### 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. Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Nishida M, Maeda Y, Mori N, Takao T, Tamesa T, Tangoku A, Tabuchi H, Hamada K, Nakayama H, Ishitsuka H, Miyamoto T, Hirabayashi A, Uchimura S and Hamamoto Y. Use of oligonucleotide microarray as a novel approach for prediction of early intrahepatic recurrence in hepatocellular carcinoma after curative resection. *Lancet*. (in press)
2. Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Mori N, Tamesa T, Okada T, Takemoto N, Hashimoto K, Tangoku A, Hamada K, Nakayama H, Miyamoto T, Uchimura S and Hamamoto Y. Differential Gene Expression in Distinct Virologic Types of Hepatocellular Carcinoma: Association with Liver Cirrhosis. *Oncogene*. (in press)

3. Matsuoka K, Ueno T, Morita K, Kawano H, Yamaguchi K, Maekawa T, Tangoku A and Oka M. Effects of Moderate Hypothermia on Proinflammatory Cytokines Production in Rat Model of Caerulein-Induced Pancreatitis. *Pancreas*. 26(1):E12-E17, 2002.
4. Yamamoto K, Yahara N, Gondo T, Ishihara T and Oka M. Establishment and Characterization of a new pancreatic cancer cell line, YPK-1. *The Bulletin of the Yamaguchi Medical School*, 49(1-2):33-42, 2002.
5. Hinoda Y, Okayama N, Takano N, Fujimura K, Suehiro Y, Hamanaka Y, Hazama S, Kitamura Y, Kamatani N and Oka M. Association of Functional Polymorphisms of Matrix Metalloproteinase (MMP)-1 and MMP-3 Genes with Colorectal Cancer. *Int J Cancer*, 10:102(5):526-529, 2002.
6. Sasaki K, Sato K, Akiyama Y, Yanagihara K, Oka M and Yamaguchi K. Peptidomics-based Approach Reveals the Secretion of the 29-Residue COOH-Terminal Fragment of the Putative Tumor Suppressor Protein DMBT1 from Pancreatic Adenocarcinoma Cell Lines. *Cancer Res*, 62:4894-4898, 2002.
7. Yahara N, Abe T, Morita K, Tangoku A and Oka M. Comparison of interleukin-6, interleukin-8, and granulocyte colony-stimulating factor production by the peritoneum in laparoscopic and open surgery. *Surgical Endoscopy*, 16:1615-1619, 2002.
8. Nakamura M, Oka M, Iizuka N, Kawauchi S, Gondo T and Ueno T, Tangoku A. Osteopontin Expression in Chronic Pancreatitis. *Pancreas*, 25(2):182-187, 2002.
9. Iizuka N, Oka M, Yamada-Okabe H, Mori N, Tamesa T, Okada T, Takemoto N, Tangoku T, Hamada K, Nakayama H, Miyamoto T, Uchimura S and Hamamoto Y. Comparison of Gene Expression Profiles between Hepatitis B Virus- and Hepatitis C Virus-infected Hepatocellular Carcinoma by Oligonucleotide Microarray Data on the Basis of a Supervised Learning Method. *Cancer Res*, 62:3939-3944, 2002.
10. Iizuka N, Hazama S, Yoshimura K, Yoshino S, Tangoku A, Miyamoto K, Okita K and Oka M. Anticachectic effects of the natural herb *Coptidis rhizoma* and berberine on mice bearing colon 26/clone

20 adenocarcinoma. *Int J Cancer*, 10:99(2):286-291, 2002.

11. Suzuki N, Tanaka S, Maeda Y, Hida N, Mine T, Yamamoto K, Oka M and Itoh K. Detection of peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors used for specific immunotherapy for pancreatic cancer. *Int J Cancer*, 1:98(1):45-50, 2002.

12. Ueno T, Tangoku A, Yoshino S, Abe T, Toshimitsu H, Furuya T, Kawauchi S, Oga A, Oka M and Sasaki K. Gain of 5p15 detected by comparative genomic hybridization as an independent marker of poor prognosis in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Clin Cancer Res*, 8(2):526-533, 2002.

13. Okayama N, Fujimura K, Suehiro Y, Hamanaka Y, Fujiwara M, Matsubara T, Maekawa T, Hazama S, Oka M, Nohara H, Kayano K, Okita K and Hinoda Y. Simple genotype analysis of the Asp299Gly polymorphism of the Toll-like receptor-4 gene that is associated with lipopolysaccharide hyporesponsiveness. *J Clinical Laboratory analysis*, 16:56-58, 2002.

14. Shimada H, Liu TL, Ochiai T, Shimizu T, Haupt Y, Hamada H, Abe T, Oka M, Takiguchi M and Hiwasa T. Facilitation of adenoviral wild-type p53-induced apoptotic cell death by overexpression of p33(ING1) in T.Tn human esophageal carcinoma cells. *Oncogene*, 4:21(8):1208-1216, 2002.

15. Takano N, Iizuka N, Hazama S, Yoshino S, Tangoku A and Oka M. Expression of estrogen receptor- $\alpha$  and  $\beta$  mRNAs in human gastric cancer. *Cancer Lett*, 176(2):129-135, 2002.

#### 1-2. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)

1. 鈴木伸明, 岡 正朗: 消化器癌のワクチン療法. *消化器外科*, 2002;25:1841-1846.

#### 1-3. 論文発表 (著書)

なし

#### 2. 学会発表

##### 2-1. 海外学会発表(口頭・ポスター発表)

1. Nobuaki Suzuki, Yoshiaki Maeda, Shoko Tanaka, Naoya Hida, Takashi Mine, Koutaro Yamamoto, Kyogo Itoh and Masaaki Oka. Evaluation of Immuno-reactivities using MUC1 Peptide-pulsed Dendritic Cells for Patients with Unresectable Pancreatic Cancer. The

5<sup>th</sup> World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association, Tokyo, Japan. (2002.4.25~29)

2. Koutaro Yamamoto, Tomio Ueno, Yahara Noboru, Tooru Kawaoka, Masaaki Oka. Radical Operation for Invasive Pancreatic Cancer with Hemi-circle Plexus Preservation. The 5<sup>th</sup> World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association, Tokyo, Japan. (2002.4.25~29)

3. Noboru Yahara, Shoichi Hazama, Toru Kawaoka, Kohtarou Yamamoto, Tomio Ueno, Akira Tangoku, Masaaki Oka. Evaluation of Immuno-reactive using MUC1 Peptide-pulsed Dendritic Cells for Patients with Unresectable Pancreatic Cancer. The 5<sup>th</sup> World Congress of the International Hepato-Pancreato-Biliary Association, Tokyo, Japan. (2002.4.25~29)

##### 2-2. 国内学会発表

1. 鈴木伸明、田中 聖子、檜田 直也、前田 好章、峯孝志、山本光太郎、裕 彰一、丹黒 章、伊東 恭悟、岡 正朗: 膵癌に対するペプチドワクチン療法の可能性. 第102回日本外科学会総会, 2002年4月11-13, 京都.

2. 山本光太郎、上野富雄、中邑光夫、矢原 昇、河岡 徹、丹黒 章、岡 正朗: 遠隔成績およびQOLからみた膵頭部浸潤性膵管癌に対する治療方針. 第102回日本外科学会総会, 2002年4月11-13, 京都.

3. 矢原 昇、裕 彰一、上野富雄、山本光太郎、中邑光夫、鈴木伸明、荒木厚博、丹黒 章、岡 正朗: 膵癌に対するMUC1-CTL療法におけるCTL誘導能の検討—移入細胞数と表面マーカーの解析より—. 第102回日本外科学会総会, 2002年4月11-13, 京都.

4. 鈴木伸明、前田好章、檜田直也、田中聖子、峯孝志、山本光太郎、裕 彰一、丹黒 章、伊東恭悟、岡 正朗: 高度進行膵癌に対するペプチドワクチン療法. 第57回日本消化器外科学会総会, 2002年7月28-30, 京都.

5. 山本光太郎、矢原 昇、河岡 徹、上野富雄、岡 正朗: 膵癌に対する多角的免疫治療. 第33回日本膵臓学会大会, 2002年9月4-5, 仙台.

6. 山本光太郎、裕 彰一、吉野茂文、吉村 清、荒木厚博、河岡 徹、末廣 寛、濱中裕一郎、日野田裕治、岡 正朗: 膵・胆管癌に対するMUC1ペプチドワクチン

療法第 I 相試験. 第61回日本癌学会, 2002年10月1-3, 東京.

7. 山本光太郎、上野富雄、矢原 昇、河岡 徹、碓 彰一、丹黒 章、岡 正朗:膵癌に対する多角的免疫治療戦略. 第40回日本癌治療学会, 2002年10月16-18, 東京.

8. 岡 正朗:膵癌に対する免疫療法. 第40回日本癌治療学会, 2002年10月16-18, 東京.

9. 河岡 徹、碓 彰一、矢原 昇、山本光太郎、吉野茂文、岡 正朗:切除不能・再発膵癌に対する細胞・ワクチン療法併用の試み. 第15回バイオセラピー学会, 2002年11月7-8日, 札幌.

10. 山本光太郎、鈴木伸明、碓 彰一、吉野茂文、矢原 昇、荒木厚博、河岡 徹、末廣 寛、濱中裕一郎、日野田裕治、岡 正朗:膵癌に対する癌ペプチドワクチン療法第1相試験の成績. 第15回バイオセラピー学会, 2002年11月7-8日, 札幌.

11. 伊東恭悟、峯 孝志、山名秀明、佐藤裕二、藤堂省、岡 正朗:上皮性癌ペプチドワクチンの臨床試験; 第一相から第二相へ. 第15回バイオセラピー学会, 2002年11月7-8日, 札幌.

12. 山本光太郎、上野富雄、矢原 昇、河岡 徹、碓 彰一、丹黒 章、岡 正朗:膵癌に対する外科治療成績と今後の治療戦略. 第64回日本臨床外科学会, 2002年11月13-15, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得  
なし(予定を含む)
2. 実用新案登録  
なし(予定を含む)
3. その他  
なし(予定を含む)

厚生科学研究費補助金(基礎研究成果の臨床応用推進研究事業)  
分担研究報告書

婦人科癌ペプチドワクチンの臨床研究に関する研究

分担研究者 嘉村 敏治 久留米大学医学部教授

研究要旨:HLA-A24 陽性及びHLA-A2 陽性の婦人科癌患者を対象として開発された癌抗原由来ペプチドを用いて、ペプチド特異的 CTL(Cytotoxic T Lymphocytes)前駆細胞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 の第I相臨床試験を行い、ペプチドワクチンの安全性と癌特異的免疫誘導能を確認した。一部の症例では、著明な腫瘍退縮を認めた。さらに、特異的免疫誘導能の高い4種類ペプチドを再発子宮頸癌患者に投与する第I相・早期第II相臨床試験を開始した。

A. 研究目的

婦人科癌を対象にしたテーラーメイド型ペプチドワクチン第I相臨床試験を実施し、安全性と特異的免疫誘導能を検討する。さらに、特異的免疫誘導能の高い4種ペプチドを指定投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に対して実施し、安全性・特異的免疫誘導能と臨床効果を検討する。

B. 研究方法

婦人科癌を対象にしたテーラーメイド型ペプチドワクチン第I相臨床試験として、HLA-A24陽性及びA2陽性の婦人科癌患者を対象として開発された30種類(A24用14種類、A2用16種類)の癌抗原由来ペプチドのうち、患者の特異免疫系(末梢血リンパ球中のT細胞)に認識されることが臨床試験前に確認されたペプチドを最大4種類投与し、安全性・特異的免疫誘導能を検討した。さらに、第I相臨床試験の結果解析に基づき、特異的免疫誘導能の高い4種ペプチドを指定投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に対して実施し、安全性・特異的免疫誘導能と臨床効果を検討した。

(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無いと判断される。2)in vitroにて癌特異的キラーT細胞を誘導することを目的として採血する場合は、本研究分担者、及び、他の研究協力医が直接患者に十分時間をかけその目的を説明し、理解と同意が得られた場合に限って15～30ml採血して研究に使用している。3)第I相臨床試験についての配慮点:GMPグレードのペプチドを米国NCI外科における臨床試験の基準にのっとり米国MPS社へ依頼して作製し(Nature Med., 4: 321, 1998)無菌試験及びシーケンスを本研究室にて再確認した後、

本学内での審査委員会での審査を経て臨床試験を実施している。4)臨床試験実施においては、本研究の分担者(医師)が専任の臨床研究看護師とともに被験者から文書での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)を得て実施している。さらに、担当医師や看護師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のカウンセリングを行う体制をとっている。

C. 研究結果

テーラーメイド型ペプチドワクチンの第I相臨床試験では、grade I～IIの有害事象として、局所反応(5/10例)、発熱(3/10例)、リンパ節腫脹(1/10例)を認めた。直腸穿孔を認めた1症例は、臨床試験前に放射線性大腸炎の既往があり、ペプチドワクチン投与との因果関係は不明であった。特異免疫誘導に関しては、10例中7例でペプチド特異的CTLの誘導が観察された。また、投与されたペプチド反応性抗体IgGを測定した結果、臨床効果を示した症例の多くにペプチド特異的IgGが同定された。10例の臨床効果については、評価可能10例中、PR1例、長期SD3例、PD6例であった。一部の症例では、著明な腫瘍退縮を認めた。

さらに、特異的免疫誘導能の高い4種類のペプチドを指定投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に対して実施した。中間解析では、有害事象としては、grade I～IIの局所反応のみであった。大部分の症例で、特異的免疫誘導は誘導されたが、現時点での臨床効果の評価は、7例中SD2例、PD5例であった。

D. 考察

平成14年度は、婦人科癌を対象にしたテーラーメイド型ペプチドワクチン第I相臨床試験をHLA-A24

陽性、HLA-A2陽性婦人科癌10症例に対して実施し、当該ワクチンプロトコールの安全性を確認した。臨床効果の観察された症例では、投与ペプチドに対するIgG抗体が同定された。投与前免疫能測定として、ペプチド特異的CTL前駆細胞のスクリーニングでなく、ペプチド抗体測定を応用できる可能性が示唆された。ペプチド抗体測定は、測定時間の短縮や測定経費節減になる可能性がある。また、第I相臨床試験の結果解析に基づき、特異的免疫誘導能の高い4種類のペプチドを指定投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に実施し、安全性・特異的免疫誘導能は確認できたが、中間期での評価では臨床効果は不十分であった。

#### E. 結論

HLA-A24陽性、HLA-A2陽性婦人科癌10症例に対する第I相臨床試験を終了し、その安全性を確認した。さらに、前もって指定した4種類のペプチドを投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に対して実施し、ワクチンの安全性は確認されたが臨床効果は不十分であり、今後の検討が必要と考えられた。

#### F. 健康危険情報

婦人科癌を対象としたペプチドワクチン第I相臨床試験では、grade I～IIの有害事象として、局所反応(5/10例)、発熱(3/10例)、リンパ節腫脹(1/10例)を認めた。直腸穿孔を認めた1症例は、臨床試験前に放射線性大腸炎の既往があり、ワクチン投与との因果関係は不明であった。4種類のペプチドを指定投与する第I相/早期第II相臨床試験を再発子宮頸癌患者に対して実施した。中間解析では、有害事象としては、grade I～IIの局所反応のみであった。

#### 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. Kanamori Y, Kigawa J, Sultana H, Suzuki M, Ohwada M, Kamura T, Sugiyama T, Yoshihiro K, Kita T, Fujiwara K and Terakawa N, P-ten Expression is Associated with Prognosis for Patients with Advanced Endometrial Carcinoma Undergoing Postoperative Chemotherapy. *Int. J. Cancer*, 100:686-689, 2002.
2. Nagao Y, Tomonari R, Kage M, Komai K, Tsubone K, Kamura T and M. Sata, The possible intraspousal transmission of HCV in terms of lichen planus. *Int. J. Mol. Med.*, 10:569-573, 2002.
3. Maeda Y, Hida N, Niiya F, Katagiri K, Harada M, Yamana H, Kamura T, Takahashi M, Sato Y, Todo S and Itoh K, Detection of peptide-specific CTL-precursors in peripheral blood lymphocytes of cancer p

atients. *Br. J. Cancer*, 87:796-804, 2002.

4. Nonaka Y, Tsuda N, Shichijo S, Ito M, Maeda Y, Harada M, Kamura T, Shigemori M and Itoh K, Recognition of ADP-ribosylation factor 4-like by HLA-A2-restricted and tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes from patients with brain tumors. *Tissue Antigens*, 60:319-327, 2002.

5. Tsuda N, Nonaka Y, Shichijo S, Yamada A, Ito M, Harada M, Kamura T and Itoh K, UDP-Gal: B GlcNAc B1,3-galactosyltransferase, polypeptide 3 (GALT3) is a tumor antigen recognised by HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocytes from patients with brain tumor. *Br J Cancer*, 87:1006-1012, 2002.

6. Yahata H, Kobayashi H, Kamura T, Amada S, Hirakawa T, Kohno K, Kuwano M and Nakano H Increased nuclear localization of transcription factor YB-1 in acquired cisplatin-resistant ovarian cancer. *J Cancer Res Clin Oncol*, 128:621-626, 2002.

7. Maeno Y, Rikitake N, Toyoda O, Kiyomatsu Y, Miyake T, Himeno W, Hirose A, Hori D, Kamura T and Kato H, Prenatal Diagnosis of Sustained Bradycardia with 1:1 atrioventricular conduction. *Ultrasound in Obstetrics & Gynecology*, 2002. (in press)

8. Kamura T, Jeon-J-D, Lymph node metastasis in a gynecologic malignancy, *Yonsei Med J*, 43:783-791, 2002.

9. Kamura T, Kim-Y-T Pitfall in chemotherapy for ovarian cancer, *Yonsei Med J*, 43:779-782, 2002.

10. Tsuda N, Mochizuki K, Harada M, Sukehiro A, Kawano K, Yamada A, Ushijima K, Sugiyama T, Nishida T, Yamana H, Itoh K and Kamura T, Vaccination with pre-designated or evidence-based peptides for patients with recurrent gynecologic cancers, *J Immunotherapy*, 2002. (in press)

11. Maeno Y, Ishii M, Himeno W, Hirose A, Akagi T, Kamura T and Matsuishi T, Detection of a focus of paroxysmal atrial contraction in the fetus using tissue velocity imaging. *Images in Cardiovascular medicine*, 2002. (in press)

###### 1-2. 論文発表 (和文査読誌掲載論文)

1. 杉山徹, 村上文洋, 嘉村敏治: 婦人科がんにおける分子標的療法. *日本産科婦人科学会雑誌* 2002;54:1246-1265.

###### 1-3. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)

1. 津田尚武, 嘉村敏治: 高度進行再発婦人科癌に対するCTL precursor-oriented 癌ペプチドワクチンの第1相臨床試験. *Biotherapy 癌と化学療法社*, 2002;16:501-504.



2. 西尾真, 河田高伸, 原田智恵子, 川越秀洋, 藤吉啓造, 石松順嗣, 綱脇現, 杉山徹, 嘉村敏治: 卵巣外原発性腹膜癌にWeekly Paclitaxel 投与が有効であった1症例. 癌と化学療法 癌と化学療法社, 2002;29:309-312.

3. 杉山徹, 大田俊一郎, 友成廉平, 嘉村敏治: 卵巣胚細胞性悪性腫瘍・卵巣性索間質性悪性腫瘍. 癌と化学療法 癌と化学療法社, 2002;29:1358-1362.

4. 杉山徹, 大蔵尚文, 嘉村敏治: 産婦人科領域. 泌尿器外科, 2002;15:7-11.

5. 杉山徹, 熊谷清介, 嘉村敏治: 婦人科治療における漢方薬. 癌の臨床 篠原出版, 2002;48:153-157.

6. 嘉村敏治: 広汎性外陰切除術. 臨床婦人科産科医学書院, 2002;56:424-427.

1-3. 論文発表 (著書)  
なし

2. 学会発表(口頭・ポスター発表)

2-1. 海外学会発表(口頭・ポスター発表)

1. Ushijima K, Sugiyama T, Kamura T, Tomonari R, Shinagawa A, The Clinical Effects of Chinese Herb Medicine for Paclitaxel-induced Neuropathy and CPT-11-induced Diarrhea.

The 9th Biennial Meetings of the International Gynecologic Cancer Society, Seoul, Korea. (2002.10.20~10.24)

2. Yahata H, Ushijima K, Yasugi T, Saito T, Kamura T, Yoshikawa H, A Multicentric Study; Conservative Treatment with High Dose Medroxyprogesterone Acetate(MPA) for Early Endometrial Cancer and Atypical Hyperplasia in Young Women.

The 9th Biennial Meetings of the International Gynecologic Cancer Society, Seoul, Korea. (2002.10.20~10.24)

3. Ota S, Li. Catusus, X. Matasis-Guiu, Kamura T, J. Prat, Moleculer Pathology of Atypical Polypoid Adenomyoma of the Endometrium. United States-Canadian Academy of Pathology Cicago, USA. (2002.2.2)

4. Komai K, Sugiyama T, Kamura T, Kigawa J, Itomachi H, Terakawa N, Does Second-Line

Chemotherapy, Performed in Response to Marker Recurrence, Improve the Outcome of Ovarian Cancer? The 38th Annual Meeting American Society of Clinical Oncology Orland, USA. (2002.5.18~5.21)

5. Ushijima K, Kamura T, Kobayashi H, Nakano H, Shimamoto T, Yamashita H, Tsukamoto N, Saitoh T, Ishimatsu T, Moriyama S, Nakajima H, Katho H, Tamura K, Phase II Study of Docetaxel/Carboplatin for Epithelial Ovarian Cancer with Sensitive Relapse after Paclitaxel or Platinum Treatment-Interim Report- The 9th Biennial Meetings of the International Gynecologic Cancer Society Seoul, Korea. (2002.10.20~10.24)

6. Tsuda N, Ushijima K, Komai K, Sugiyama T, Itoh K, Kamura T, Phase I Clinical Trial of Peptide-Based Immuno-therapy for Patients with Recurrent Gynecologic Cancer.

The 9th Biennial Meetings of the International Gynecologic Cancer Society Seoul, Korea. (2002.10.20~10.24)

2-2. 国内学会発表(口頭・ポスター発表)

1. 嘉村敏治: 卵巣腫瘍. 第54回日本産科婦人科学会総会, 2002年4月6-9, 東京

2. 津田尚武, 河野光一郎, 望月一生, 牛嶋公生, 駒井幹, 品川敦彦, 山名秀明, 杉山徹, 西田敬, 伊東恭悟, 嘉村敏治: 高度進行再発婦人科癌に対する CTLprecursor-oriented 癌ペプチドワクチンの第一相臨床試験. 第54回日本産科婦人科学会総会, 2002年4月6-9, 東京

3. 品川敦彦, 松尾剛, 牛嶋公生, 杉山徹, 西田敬, 嘉村敏治: ラット正常卵胞におけるシスプラチン(CDDP)投与時の経時的組織変化についての検討. 第54回日本産科婦人科学会総会, 2002年4月6-9, 東京

4. 駒井幹, 杉山徹, 大田俊一郎, 牛嶋公生, 西田敬, 嘉村敏治: 上皮性卵巣癌において CA125 での早期再発診断は予後を改善するか? 第54回日本産科婦人科学会総会, 2002年4月6-9, 東京

5. 松尾剛, 平井伸幸, 駒井幹, 牛嶋公生, 杉山徹, 西田敬, 嘉村敏治: 早期卵巣明細胞癌に対する治療と予後に関する検討. 第54回日本産科婦人科学会総会, 2002年4月6-9, 東京

6. 嘉村敏治: 子宮体癌における傍大動脈リンパ節廓

清後の長期予後について.第33回日本婦人科腫瘍学会総会, 2002年11月28-29, 東京

7. 津田尚武, 望月一生, 河野光一郎, 助廣亜希, 牛嶋公生, 山田亮, 山名秀明, 嘉村敏治, 伊藤恭悟:再発婦人科癌に対するCTLprecursor-oriented癌ペプチドワクチンの第一相臨床試験.第6回基盤的癌免疫研究総会, 2002年7月16-17, 久留米市

8. 松尾剛, 牛嶋公生, 太田俊一郎, 駒井幹, 藤吉啓造, 嘉村敏治:子宮頸癌における抗癌剤併用放射線療法についての検討-放射線単独療法との比較-. 第32回日本婦人科腫瘍学会総会, 2002年7月25-27, 北九州市

9. 寺田貴武, 松尾剛, 駒井幹, 牛嶋公生, 杉山徹, 西田敬, 嘉村敏治:Broad nignament tumor of probable wolffian originの一例.第32回日本婦人科腫瘍学会総会, 2002年7月25-27, 北九州市

10. 嘉村敏治:標準的治療の評価と問題点.第40回日本癌治療学会総会, 2002年10月16-18, 東京

11. 望月一生, 津田尚武, 牛嶋公生, 山名秀明, 伊東恭悟, 嘉村敏治:再発婦人科癌に対するCTL precursor-oriented ペプチドワクチンの第一相臨床試験.第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京

12. 杉山徹, 井筒俊彦, 駒井幹, 藤吉啓造, 牛嶋公生, 嘉村敏治:局所進行子宮頸部癌に対するNeoadjuvant Chemotherapyの効果.第40回日本癌治療学会総会, 2002年10月16-18, 東京

13. 金森康展, 大石徹郎, 紀川純三, 大和田倫孝, 鈴木光明, 杉山徹, 嘉村敏治, 喜多恒和, 菊池義公, 藤原恵一, 河野一郎, 寺川直樹:進行子宮内膜癌におけるPTEN発現と予後. 第40回日本癌治療学会総会, 2002年10月16-18, 東京

14. 駒井幹, 大田俊一郎, 牛嶋公生, 嘉村敏治, 杉山徹, 紀川純三, 板持広明, 寺川直樹:卵巣癌のMarker recurrenceに対するsecond-line chemotherapy は予後を改善するか. 第40回日本癌治療学会総会, 2002年10月16-18, 東京

15. 品川敦彦, 牛嶋公生, 杉山徹, 嘉村敏治, 松尾剛, 西田敬:シスプラチン(CDDP)投与時のラット正常卵胞の経時的組織変化についての検討. 第40回日本癌治療学会総会, 2002年10月16-18, 東京

G. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

遺伝子、ペプチド及びペプチド抗体基礎研究に関する研究

分担研究者 七條 茂樹 久留米大学医学部助教授

研究要旨: I. より多様な HLA タイプの癌患者のテーラーメイド型癌ワクチン治療に対応する遺伝子およびペプチドの同定を目的として研究を行った。本研究では、① 大腸癌組織浸潤リンパ球から樹立した細胞傷害性 T 細胞株が HLA-A2 拘束性に認識する遺伝子をグリオブラストーマ細胞株、KNS60 から作製した cDNA ライブラリーから 2 種類(ADP-ribosylation factor 4-like: ARF4L; UDP-Gal:  $\beta$  GlcNAc  $\beta$  1,3-galactosyltransferase, polypeptide 3: GALT3) およびこれらの遺伝子がコードする HLA-A2 拘束性ペプチド(ARF4L 15-24, ARF4L 69-77, GALT3 159-167, GALT3 275-283)を同定した。② HLA-B46 拘束性に認識する p53 遺伝子およびペプチド 2 種(p53 99-107, p53 330-338)を同定した。さらに③ 食道癌由来 CTL 株が HLA-A26 拘束性に認識する遺伝子を 2 種類(リボソーム蛋白 S2 と L10a をコードする遺伝子) および 3 種類のペプチド(S2 254-262, L10a 9-17 および L10a 30-38)を同定した。これらのペプチドは、すべて癌患者末梢血単核球細胞からの CTL 誘導能を有していた。さらに、これらのペプチド特異的 CTL 反応は抗体による抑制実験から MHC 拘束性 CD8 陽性 T 細胞によって認識されたことが確認された。

(II) SART3分子に対する単クローン抗体の解析により、その診断においては有用であることを示した。さらにペプチドに対する単クローン抗体(SART3<sub>109</sub>, SART3<sub>315</sub>)産生クローンを樹立した。抗体の解析は次年度以降行う予定である。

A. 研究目的

I. これまで、日本人や欧米人で最も多いHLA-A2および日本人で最も多いHLA-A24拘束性のCTLが認識する癌抗原ペプチドの同定を行ってきた。久留米大学では3年前より、これらのペプチドを用いた癌ワクチン第I相および早期第II相臨床試験を行い、いくつかの癌腫において効果を確認した。癌ワクチン療法はテーラーメイド型医療として、各種HLAタイプの各患者に対応し、さらに各種癌の個性に応じてできるだけ多くの癌抗原に対応しなければならない。このために、これまでに同定したペプチドの選別および解析をさらに進める事と平行して、前者以外のHLAタイプに拘束した抗原ペプチドの同定も行う必要がある。すでにHLA-A2, HLA-A26, HLA-B46拘束性のCTLが樹立されているので、これらの抗原ペプチドの同定を行う。また、それらの抗原ペプチドをin vitroで選別するために、健常人と癌患者でのペプチドによるCTLの誘導能の比較、HLA拘束性およびペプチド抗原特異性の検討などを行う。最終的には、患者に対するin vivoでのCTL誘導能、有害事象の有無、および臨床効果の観察などを行った上で選別する必要がある。①悪性脳腫瘍は予後が不良な場合が多く、新たな治療法の開発が待たれる。そこで、HLA-A2の癌患者TILから樹立したCTL株がMHC拘束性に認識し、且つ脳に多く発現する遺伝子産物がコードし、脳腫瘍患者末梢血からの腫瘍

特異的CTL誘導能を有するペプチドを同定することを目的とした。HLA-A2は、中国人、白人および日本人でそれぞれ53, 49, および40%とHLA多型性の中でも高頻度に出現することから、MHC拘束性を有するCTLを介した免疫治療では適用範囲が広い。②HLA-B46および③HLA-A26は、アジア地域に比較的多く、HLA-Aアレルの欠失やHLA-A2, -A24を持たない患者に対するテーラーメイド型治療の候補ペプチドとして有用であると考えられる。そこで、HLA-B46およびHLA-A26拘束性CTL株を用いて癌抗原遺伝子のクローニングを行う。

II. ペプチドワクチン臨床試験における患者の免疫応答と臨床効果の関連性をしらべることにより、あらかじめ抗体が検出される、あるいはワクチン投与後に抗体価の上昇が認められる事と臨床効果の間に関連性が示唆されたことからペプチドに対するマウス・モノクローナル抗体を作製し、抗体の役割の解析を行う事とした。

B. 研究方法

1) HLA-A2拘束性脳腫瘍ワクチンペプチドの同定:グリオブラストーマ細胞株、KNS60からcDNAライブラリーを作製し、「遺伝子発現クローニング法」で、HLA-A2拘束性CTLが認識する癌遺伝子をクローニングする。さらに、CTL株が認識するT細胞エピトープは、T2細

胞(HLA-A2陽性、ペプチド輸送分子のTAP欠損株)に合成ペプチドで感作したものを標的細胞として解析し、ペプチドを同定する。ワクチン候補ペプチドは、脳腫瘍患者末梢血からのHLA-A2拘束性、腫瘍特異的CTL誘導能で判定し、決定する。

2) HLA-B46拘束性癌抗原ペプチドの同定:肺癌細胞株、QG56(HLA-B46陽性、HLA-A2陰性)に対して反応性が高いCTLサブライン(OKB-CTL)を大腸癌組織浸潤リンパ球由来CTL株(OK-CTL)から樹立した。このCTL株が認識する癌遺伝子を「遺伝子発現クローニング法」にて単離する。すなわち、HLA-B4601遺伝子をSW620 cDNAライブラリーと同時に導入したCOS-7細胞株を標的に、OKB-CTLがHLA-B46拘束性に認識する抗原遺伝子をIFN- $\gamma$ 産生を指標に選別する。また、HLA-B46結合モチーフを持つペプチドを合成し、HLA拘束性CTLにより認識される癌抗原ペプチドを同定する。すなわち、HLA-B46を遺伝子導入する事により発現させたCOS-7細胞にペプチドを結合させ、これを標的細胞としてIFN- $\gamma$ 産生を指標にCTLが認識するペプチドを同定する。同定したペプチドのうちワクチン候補ペプチドは患者末梢血からの抗原特異的CTL誘導能を有するペプチドを選ぶ。

3) SART3分子およびHLA-A24拘束性SART3 109, SART3 315に対するmAbの作製: SART3/GST融合蛋白およびキャリアー(BSA)に共有結合させたSART3 109, SART3 315をアジュバントと共にBALB/cマウスに免疫し、脾細胞をマウスミエローマ細胞株NS-1と融合させ、抗体産生融合細胞クローンを単離した。

### C. 研究結果

本年度は、(I) 5種類の遺伝子とこれらがコードする9種類のペプチドを同定した。すなわち、①HLA-A2拘束性ペプチド4種類(ARF4L 15-24, ARF4L 69-77, GALT3 159-167, GALT3 275-283)とそれをコードする拒絶抗原遺伝子2種類(ADP-ribosylation factor 4-like:ARF4L; UDP-Gal: $\cdot$ GlcNAc $\cdot$ 1,3-galactosyltransferase, polypeptide 3:GALT3)を同定した。また、②各癌腫に有効なペプチドを選別およびより多様なMHCタイプに対応する目的で大腸癌組織浸潤リンパ球から樹立した細胞傷害性T細胞株がHLA-B46拘束性に認識するp53遺伝子を単離した。さらにこれらの遺伝子にコードされるT細胞エピトープを2種類(p53 99-107, p53 330-338)決定した。ペプチド特異的CTL反応はそれぞれCD8, HLA-B,CおよびHLA-class IIに対する抗体で抑制され、CD4, HLA-class II, およびCD14 (negative control) に対する抗体では抑制されたことからMHC拘束性が確認された。これらのペプチドは、各種癌患者(前立腺癌、子宮頸癌および大腸癌)患者末梢血をin vitroで刺激することによってペプチド特異的T細胞を誘導できた。誘導されたT細胞の癌細胞株に対

する傷害活性はクロム遊離反応でも確認した。さらに、③食道癌由来のTILから樹立したHLA-A26拘束性KE4-CTLが認識する2種類の遺伝子(リボソーム蛋白S2とL10a)およびこれらの遺伝子が認識するエピトープペプチド3種類(S2 254-262, L10a 9-17, およびL10a 30-38)を同定した。いずれも癌患者末梢血からHLA-A26拘束性、癌細胞特異的CTL誘導能があることを証明し、HLA-A26患者に対するワクチンペプチド候補になり得ることが示唆された。

(II) SART3分子に対するモノクローナル抗体を作製した。特異性は、ウェスタンブロットおよび免疫染色により行い、SART3蛋白を認識することを確認した。また、SART3 109, SART3 315ペプチドに対する抗体が癌患者に高率に検出され、あるいはこれらのペプチドを投与した患者で高率に抗体価が増加し、臨床効果との関連性が示唆されたことによりこれらのペプチドに対してもモノクローナル抗体を作製した。抗体の特異性および生物学的活性については現在解析中である。

### D. 考察

(I) より多様なHLAタイプの癌患者のテラーメード型癌ワクチン治療に対応するペプチドの同定を目的として研究を行い、①大腸癌組織浸潤リンパ球から樹立した細胞傷害性T細胞株がHLA-A2拘束性に認識するグリオブラストーマ細胞株、KNS60から作製したcDNAライブラリーから癌抗原遺伝子2種類をクローニングし、これらの遺伝子がコードするHLA-A2拘束性ペプチド4種類を同定した。または②HLA-B46さらに③食道癌由来CTL株がHLA-A26に認識する遺伝子を2種類単離した。さらにこれらの遺伝子にコードされるT細胞エピトープを2種類決定した。②HLA-B46拘束性にはp53由来ペプチド2種類を同定した。HLA-BはHLA-Aに比べて多型性に富むため種類が多く、拘束性ペプチドを同定することは手間がかかる。また、本研究で試みたHLA-B46の様にその結合モチーフをもったペプチドのデータベースが整備されていない、HLA-B46に対する特異的抗体が市販されていないなどいまだ困難な面が多い。しかしながら、HLAの多様性に対応するため、あるいは腫瘍のエスケープ機構としてHLA分子の欠失があったりする事からHLA-Bアレルに拘束するペプチドを同定する意義は大きいと考えられる。③HLA-A26拘束性にはリボソーム蛋白S2とL10aをコードする遺伝子および3種類のペプチドを同定した。これらのペプチドは、すべて癌患者末梢血単核球細胞からのCTL誘導能を有していた。さらに、これらのペプチド特異的CTL反応はそれぞれCD8, HLA-B,CおよびHLA-class IIに対する抗体で抑制され、CD4, HLA-class II, およびCD14 (negative control) に対する抗体では抑制されなかったことからMHC拘束性CD8陽

性T細胞によって認識されたことが確認された。(II) SA RT3分子に対する単クローン抗体の解析により、その診断においては有用であることを示した。さらにペプチドに対する単クローン抗体(SART3<sub>109</sub>, SART3<sub>315</sub>)産生クローンを樹立した。今後、これらの抗体の特異性、生物学的活性の解析を進めていく。

倫理面への配慮: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。2) in vitro にて癌特異的キラーT細胞を誘導することを目的として採血する場合は、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。

#### E. 結論

大腸癌・食道癌患者の癌局所に浸潤しているTILから樹立したCTL株がHLA-A2, -A26, および-B46拘束性に認識する抗原ペプチドおよびこれらをコードする遺伝子を単離した。テーラーメイド型ペプチドワクチンを開発するためにはより多くの候補ペプチドが必要となり、さらには各種腫瘍に効果のあるペプチドを選別する必要があるかもしれない。臨床試験における患者の免疫応答の解析から、投与ペプチドに対する液性免疫応答、すなわちペプチドに対する抗体もワクチン療法に関与する可能性が示唆されたため、モノクローナル抗体の作成も行った。抗体の特異性の解析および生物学的解析は現在進行中である。

#### F. 健康危険情報 特になし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. Azuma K, Shichijo S, Maeda Y, Nonaka Y, Fujii T, Kenta K and Itoh K, Mutated p53 gene encodes a non-mutated epitope recognized by HLA-B4601-restricted and tumor-reactive CTLs at tumor site. *Cancer Res.*(in press)

2. Koga M, Shichijo S, Yamada A, Ashihara J, Sawamizu H, Kosukawa J and Itoh K, Identification of ribosomal proteins S2 and L10a as tumor antigens recognized by HLA-A26-restricted CTL. *Tissue Antigen.*(in press)

3. Kawamoto N, Yamada A, Ohkouchi S, Maeda T, Tanaka S, Hashimoto T, Saijo Y, Saijo S, Nukiwa T, Shichijo S, Aizawa H and Itoh K, IgG reactive to CTL-directed epitopes of self-antigens is enter lacking or unbalanced in atopic dermatitis patients. *Tissue Antigen.* (in press)

4. Nonaka Y, Tsuda N, Shichijo S, Ito M, Maeda Y, Harada M, Kamura T, Shigemori M and Itoh K,

Recognition of ADP-ribosylation factor 4-like by HLA-A2-restricted and tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes from patients with brain tumors. *Tissue Antigen.*(in press)

5. Tsuda N, Nonaka Y, Shichijo S, Yamada A, Ito M, Maeda Y, Harada M, Kamura T and Itoh K, UDP-Gal:beta GlcNAc beta1, 3-galactosyltransferase, polypeptide 3 (GALT3) is a tumor antigen recognized by HLA-A2-restricted cytotoxic T lymphocytes from patients with brain tumor. *Br J Cancer* 2002 87:1006-1012.

6. Maeda Y, Ito Masaaki, Harashima N, Nakatsura T, Hida N, Imai N, Sato Y, Shichijo S, Todo S and Itoh K, Cleavage and polyadenylation specificity factor (CPSF)-derived peptides can induce HLA-A2-restricted and tumor-specific CTLs in the majority of gastrointestinal cancer patients. *Int J Cancer* 2002 99:409-417.

7. Komatsu N, Shichijo S, Maeda Y and Itoh K, Measurement of interferon- $\gamma$  by high-throughput fluorometric microvolume assay technology (FMAT) system. *J Immunological method* 2002 263:169-176.

8. Ohkouchi S, Yamada A, Imai N, Mine T, Harada T, Shichijo S, Maeda Y, Saijo Y, Nukiwa T, Itoh K, Non-mutated tumor-rejection antigen peptides elicit type-I allergy in the majority of healthy individuals. *Tissue Antigens* 2002 59:259-272.

9. Yutani S, Tanaka M, Mastumoto H, Imai N, Sata M, Shichijo S, Harada M and Itoh K, Elevation of serum MAGE-4 protein levels and prediction of hepatocellular carcinogenesis in patients with liver cirrhosis. *Jpn J Cancer Res* 2002 93:453-458.

10. Tanaka K, Harashima N, Niiya F, Miyagi Y, Hida N, Ochi M, Imai N, Harada M, Itoh K and Shichijo S, Serine proteinase inhibitor 9 can be recognized by cytotoxic T lymphocytes of epithelial cancer patients. *Jpn J Cancer Res* 2002 93:198-208.

11. Yutani S, Tanaka M, Mastumoto H, Imai N, Sata M, Shichijo S and Itoh K, Elevation of serum MAGE-4 protein levels and prediction of hepatocellular carcinogenesis in patients with liver cirrhosis. *Jpn J Cancer Res* 2002 93:453-458.

##### 2. 学会発表

1. 七條茂樹, 東 公一, 小松誠和, 伊藤雅昭, 伊東恭悟:HLA-B46拘束性CTLに認識される癌抗原遺伝子と抗原ペプチド同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

2. 古賀 真, 七條茂樹, 山田 亮, 伊東恭悟:HLA-A2 6拘束性癌拒絶抗原としてのribosomal protein S2, L10a の同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

3. 大河内眞也, 山田 亮, 原田 守, 七條茂樹, 貫和敏博, 伊東恭悟:肺腺癌由来HLA-B52拘束性新抗原拒絶抗原の同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

4. 竹田津宏子, 東 公一, 七條茂樹, 伊東恭悟:HLA-A31拘束性CTLにより認識される癌拒絶抗原の同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

5. 小松誠和, 七條茂樹, 伊東恭悟:Fluorometric Microvolume Assay Technologyによる細胞性免疫・液性免疫モニタリング法. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

6. 七條茂樹, 東 公一, 小松誠和, 伊藤雅昭, 伊東恭悟:HLA-B46拘束性CTLに認識される癌抗原遺伝子と抗原ペプチドの同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

7. 東 公一, 七條茂樹, 前田好章, 伊東恭悟:大腸癌組織浸潤リンパ球由来HLA-B4601拘束性CTL株により認識される抗原ペプチドをコードする遺伝子の同定. 第61回日本癌学会総会, 2002年10月1-3, 東京.

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

胃癌と大腸癌に対するペプチドワクチンの臨床研究に関する研究

分担研究者 藤堂 省 北海道大学医学部教授

研究要旨：HLA-A2またはA24陽性の再発、再燃胃癌・大腸癌に対するCTL precursor-oriented peptide vaccineの第Ⅰ相、第Ⅱ相試験遂行中である。平成15年1月31日現在、胃癌21例及び大腸癌18例が参加している。第Ⅰ相試験ではA-24陽性胃癌、大腸癌それぞれ10、11例が終了した。投与方法はCTL活性の高い順に最大限4種類選択し、皮内反応後それぞれ3mgを皮下投与した。21例の有害事象は、grade2 4例,grade1 13例で、血液学的副作用は皆無であった。臨床効果は胃癌PR0,NC4,PD5,判定不能1例、大腸癌PR1,NC3,PD7例であった。なかでもⅠ、Ⅱ相試験を通じて再発・再燃スキルス胃癌12例ではPR1,NC5,PD3,判定不能3例と良好な成績が得られ、生存期間においてもワクチン投与開始後の中央値7.0ヶ月であり当科の腹膜転移陽性胃癌切除後中央値5.9ヶ月と比較して良好であった。また、ペプチドに対する抗体産生の有無、ペプチド特異的CTL増強が有効な指標となる傾向にあった。今後、有効例と無効例を判別する指標を設定することにより、有効率の向上が期待され、新たな胃癌・大腸癌の治療薬となりうることが示唆された。

A. 研究目的

胃癌・大腸癌の再発例、StageⅣ(切除不能、切除後再燃例)の予後は惨憺たるもので、抗癌剤感受性を応用した化学療法や放射線療法の進歩に加え、最近のモノクローナル抗体、シグナル伝達に関わる薬剤などの進歩により生存率の延長が見られるが、そのほとんどの症例は2年以内に死亡する。その原因は、抗癌剤抵抗性の獲得や耐性、患者の全身状態の低下により必要量が投与できない等の理由である。また、それらの治療に対する無効例ではQOLを低下させる。従って、これらの癌に新しい方法論が必要である。今回胃癌・大腸癌の再発、stageⅣに対してpeptide vaccineの有効性を検討した。

B. 研究方法

胃癌・大腸癌再発、stageⅣ症例を対象とした。登録基準として85歳未満、PS0-2、2ヶ月以上生存見込みのある、重複癌を除く、前治療よりのwash-out期間が4週以上、血液所見がWBC > 3,000/ $\mu$ l, Hb > 8.0g/dl, PLT > 100,000/ $\mu$ l, Cr < 1.4mg/dl, T-Bil < 1.5mg/dlを基準として、患者および家族の同意を基本とした。ワクチン投与はあらかじめ患者より採取したリンパ球より、CTL活性の高いワクチン(CTL precursor-oriented vaccine)4種を選択し、皮内反応10mm以下であったものを投与した。その有効性は原則としてRECIST基準、有害事象はNIH common toxicity criteriaを使用した。また、有効性の指標としてpeptide特異的CTLの有無、特異的抗体、DTH、各種細胞cell lineに対するcytotoxicityの増強より検討した。

(倫理面への配慮)

北海道大学の倫理委員会の審査を経て、患者の同意を得て施行した。また、個人識別情報管理者を置き、患者個人情報やプライバシーに配慮した。

C. 研究結果

胃癌第Ⅰ相試験はHLA-A2 1,A-24 10例、第Ⅱ相試験A-2 4,A-24 6例登録された。大腸癌ではHLA-A2 3,A-24 11例、第Ⅱ相試験A-2 1,A-24 3例登録された。これら第Ⅰ相試験の21例について有害事象はgrade2発熱 4例,grade1の局所発赤5,発熱 3,嘔気・嘔吐2、食欲不振、下痢、全身倦怠それぞれ1例で、血液学的副作用は皆無であった。第Ⅰ相試験の臨床効果は、胃癌PR0,NC4,PD5,判定不能1例、大腸癌PR1,NC3,PD7例であった。

最長生存は胃癌18ヶ月、大腸癌19ヶ月それぞれ生存中である(2003年1月月現在)。

第Ⅰ、Ⅱ相試験の中でスキルス胃癌症例は12例でありその成績はPR1,NC5,PD3,判定不能3例で、生存期間中央値はワクチン開始後7.0ヶ月、最長18ヶ月生存中である。

また、有効性の指標として測定したpeptide特異的CTLの増強は検索した17例中7例にみられ、4例がPR/NCであった。特異的抗体では17例中13例が陽性で、7例がPR/NCであった。

D. 考察

進行胃癌・大腸癌の治療は手術とそれに続く抗癌剤、免疫剤の治療が行われる。しかしながら、抗癌剤有効性は20-40%である。さらに、これらの再発、再燃症

例で切除不能例の予後は、抗癌剤抵抗性やQOLの低下などによりきわめて悪く、胃癌では2年生存は望めない。当科のスキルス胃癌切除77例中腹膜転移のある(P+)19例の生存期間中央値は手術後5.9ヶ月、P(-)58例のそれは13.0ヶ月(stage Iは除く)であり、現在有効な治療法がない。それと比較し、今回われわれの症例は手術、化学療法施行後の症例が殆どであり生存期間中央値はワクチン開始後7.0ヶ月と明らかな有効性が見られた。また、第I、II相有効性の指標としてpeptide特異的CTLの増強が得られた例の57.1%(4/7)、特異的抗体が誘導された例の53.8%(7/13)にPR/NC症例がみられ有効性の指標となる可能性が示唆される。

#### E. 結論

今回の検討の結果、このワクチン療法は有効である。なぜなら、その有効率は抗癌剤より劣るが、切除不能の担癌患者であるにもかかわらず長期生存(胃癌18ヶ月2名、大腸癌19ヶ月2名—何れも生存中)が得られたこと、予後が悪く抗癌剤が有効でないと言われるスキルス胃癌に生存率の延長をみたこと、登録症例のほとんどが手術とそれに続く抗癌剤を施行された症例で、しかもその有効性が見られなくなった症例であること、ワクチン投与によっても有害事象は重篤なものがないこと、患者のQOLが維持されほとんどの症例が末期まで外来治療ができたことである。

また、peptide特異的CTLの有無、特異的抗体がその指標となる可能性が示唆され、ワクチン有効例を選択でき、オーダーメイド治療ができることである。

#### F. 健康危険情報

今回の例に対しての副作用は局所の硬結・発赤が主なもので他は軽度発熱、等であった。Grade3以上の有害事象はなく、ほとんどがgrade1ときわめて安全であった。

#### 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. Nakajima Y, Shimamura T, Kamiyama T, Matsushita M, Sato N and Todo S, Control of Intraoperative Bleeding During Liver Resection: Analysis of a Questionnaire Sent to 231 Japanese Hospitals, *Surgery Today*, 32:48-52, 2002.

2. Ishikawa H, Jin MB, Ogata T, Taniguchi M, Suzuki T, Shimamura T, Magata S, Horiuchi H, Ogata K, Masuko H, Fujita M, Furukawa H and Todo S, Role of cyclic nucleotides in ischemia and reperfusion

injury of canine livers, *Transplantation*, 73(7):1041-1048, 2002.

3. Kamachi H, Matsushita M, Okubo H, Kawai T, Nishikawa K, Fujimoto T and Todo S, Rat small hepatocytes for liver support: growth and metabolic activities in culture, *J Artif Organs*, 5:24-29, 2002.

4. Nakagawa T, Takahashi M, Ozaki T, Watanabe K, Todo S, Mizuguchi H, Hayakawa T and Nakagawara A, Autoinhibitory regulation of p73 by  $\Delta$ Np73 to modulate cell survival and death through a p73-specific target element within the  $\Delta$ Np73 promoter, *Molecular and cellular biology*, 22(8):2575-2585, 2002.

5. Maeda Y, Ito M, Harashima N, Nakatsura T, Hida N, Imai N, Sato Y, Shichijo S, Todo S and Itoh K, Cleavage and polyadenylation specificity factor (CPSF)- derived peptides can induce

1. HLA-A2-Rstricted and Tumor-specific CTLs is the majority of gastrointestinal cancer patients, *Int J. Cancer*, 99:409-417, 2002.

6. Noto H, Matsushita M, Nishikawa M, Okubo H, Kamachi H, Nishikawa K, Fujimoto T and Todo S, Injuriousness of glycochenodeoxycholate and taurochenodeoxycholate to cultured hepatocytes, *J Artif Organs*, 5:30-36, 2002.

7. Watanabe K, Ozaki T, Nakagawa T, Miyazaki K, Takahashi M, Hosoda M, Hayashi S, Todo S, and Nakagawara A, Physical Interaction of p73 with c-Myc and MMI1, a c-Myc-binding Protein, and Modulation of the p73 Function, *The Journal of Biological Chemistry*, 277(17):15113-15123, 2002.

8. Nomura M, Yamashita K, Murakami M, Takehara M, Echizenya H, Sunahara M, Kitagawa N, Fujita M, Furukawa H, Uede T and Todo S, Induction of donor-specific tolerance by adenovirus mediated CD401g gene therapy in rat liver transplantation, *Transplantation*, 73(9):1403-1410, 2002.

9. Nakanishi K, Sakamoto M, Yasuda J, Takamura M, Fujita N, Tsuruo T and Todo S, Critical Involvement of the Phosphatidylinositol 3-Kinase / Akt Pathway in Anchorage-independent Growth and Hematogeneous Intrahepatic Metastasis of Liver Cancer, *Cancer Research*, 62:2971-2975, 2002.



10. Okubo H, Matushita M, Kamachi H, Kawai T, Takahashi M, Fujimoto T, Nishikawa K and Todo S, A Novel Method for Faster Formation of Rat Liver Cell Spheroids, *Artificial Organs*, 26(6):497-505, 2002.
11. Jin MB, Nakayama M, Ogata T, Fujita M, Mino K, Taniguchi M, Suzuki T, Shimamura T, Furukawa H and Todo S, A Novel lefunomide derivative, FK778, for immunosuppression after kidney transplantation in dogs, *Surgery*, 132(1):72-79, 2002.
12. Konishi K, Inobe M, Yamada A, Murakami M and Todo S, Combination Treatment With FTY720 and CTLA41gG Preserves the Respiratory Epithelium and Prevents Obliterative Disease in a Murine Airway Model, *The Journal of Heart and Lung Transplantation*, 21(6):692-700, 2002.
13. Satoh Y, Esche C, Gambotto A, Shurin VG, Yurkovetsky RZ, Robbins DP, Watkins CS, Todo S, Herberman BR, Lotze TM and Shurin RM, Local administration of IL-12-transfected dendritic cells induces antitumor immune responses to colon adenocarcinoma in the liver in mice, *Journal of Experimental Therapeutics and Oncology*, 2: 337-349, 2002.
- 1-2. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)
1. 古川博之、嶋村剛、陳孟鳳、神山俊哉、松下通明、藤堂省: 特集「期待される移植・再生医療ー現状と展望」＜移植医療の現状と問題点＞ 肝臓移植 小児内科34(1):57-62, 2002.
2. 喜納政哉、秦庸壯、田口和典、高橋弘昌、近藤正男、佐藤裕二、清水道生、藤堂省: 胃・卵巣転移を伴った乳腺浸潤性小葉癌の1例 日本臨床外科学会雑誌63(2):324-328, 2002 Feb.
3. 嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦、蒲池浩文、萩原邦子、神山俊哉、松下通明、古川博之、藤堂省: 特集「我が国における肝移植の現状と展望」適応拡大への問題点と対策 劇症肝炎症例への移植 消化器外科25(3):297-304, 2002 March.
4. 神山俊哉、古川博之、藤堂省: 肝臓手術 肝移植ドナー手術 消化器外科周術期管理のすべて 263-269, 2002 March.
5. 嶋村剛、古川博之、藤堂省: 肝臓手術 肝移植レシピエント手術 消化器外科周術期管理のすべて 270-278, 2002 March.
6. 松下通明、神山俊哉、倉内宣明、中川隆公、蒲池浩文、古川博之、藤堂省: 特集「肝離断法を考える」I. 肝離断法の比較研究 4. 肝切離におけるハーモニックスカルペル vs CUSA, Water jet 外科64(5), 2002 May.
7. 藤堂省、古川博之、嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己: 肝移植治療法の進歩 (第29回内科学の展望講演) 日本内科学会雑誌91Supplement: 43-50, 2002 March.
8. 嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦、工藤岳秋、下国達志、伊東東一、古川博之、藤堂省: ICUにおける脳死ドナー管理 *Organ Biology*9(1):21-32, 2002
9. 嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦、蒲池浩文、萩原邦子、神山俊哉、松下通明、古川博之、藤堂省: 適応拡大への問題点と対策 劇症肝炎症例への移植 消化器外科25(3):297-304, 2002 March.
10. 藤堂省、古川博之、松下通明、嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦: 特集「生体肝移植の現状と展開」3. 適応 2) B型肝硬変・C型肝硬変・肝癌に対する肝移植 日本外科学会雑誌103(5):408-413, 2002
11. 藤堂省: 巻頭言 臨床外科教育の標準化 北海道外科雑誌47(1):1-2, 2002 June
12. 清水隆文、植木伸也、高田尚幸、田口和典、高橋弘昌、伊藤智雄、藤堂省: 大胸筋内再発をきたした乳癌の1例 日本臨床外科学会雑誌63(2):509, 2002 Feb.
13. 嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦、古川博之、藤堂省: 肝移植 year note 2003別冊 Selected Articles 239-250, 2002 June.
14. 小橋重親、佐藤裕二、近藤正男、福島剛、正村裕紀、藤堂省: 血管新生抑制剤としてのIFN-βの効果 医学のあゆみ202(3):213-214, 2002 July
15. 古川博之、藤堂省: 異種臓器移植ーPro: 異種移植は臓器不全を救えるか?ー 血液・免疫・腫瘍 7(3):86-90, 2002 July

16. 田口和典、藤堂省:特集:乳癌の診断と治療—新しい展開から II.診断 3.MRIによる乳癌診断 外科64(7):768-773, 2002 July

17. 嶋村剛、陳孟鳳、鈴木友己、谷口雅彦、古川博之、藤堂省:当科における脳死肝移植の経験 今日  
の移植15(4):346-353, 2002 July

18. 藤堂省:移植 慢性肝不全患者の術前治療と移植のタイミング 肝疾患診療のコツと落とし穴  
194-195, 2002 Oct.

19. 藤堂省:特集 1.本庄一夫記念・肝臓シンポジウム 2.肝細胞癌と肝移植 外科64(11):1242-1256,  
2002 Nov.

1-3. 論文発表 (著書)  
なし

## 2. 学会発表

### 2-1. 海外学会発表(口頭・ポスター発表)

1. Todo S (Guest Speaker), Technical aspects of LDLTx, “LDLTx for HCC”. Loyola University School of Medicine, Chicago, USA. (2002.6.11)

2. Todo S (Invited Speaker), Use of Marginal /Expanded Donor in Liver Transplantation. Satellite Symposium to the International Liver Transplantation Society Eighth Congress, Chicago, USA. (2002.6.13)

3. Todo S (Invited Speaker), Technical pitfalls in adult LRD and Asian Registry. Adult to Adult Living Unrelated / Related Liver Transplantation, State-of-the-Art Symposia, XIX International Congress of the Transplantation Society, Fort Lauderdale, USA. (2002.8.27)

4. Todo S (Invited Speaker), Living-related Liver Transplantation. The 3<sup>rd</sup> Turkish National Transplantation Congress, Adana, Turkey. (2002.10.18)

### 2-2. 国内学会発表

1. 藤堂省:肝癌の治療、第3回「フォーラム新世紀の消化器癌外科治療」、2002.1.12、千葉市。

2. 藤堂省:肝細胞癌に対する肝移植、第48回徳島肝・胆・膵画像診断臨床病理カンファレンス、2002.1.25、徳島市。

3. 藤堂省:肝細胞癌と肝移植、第11回福岡大学第三内科消化器セミナー、2002.1.30、福岡市。

4. 藤堂省:特別企画6 本庄一夫記念・肝臓シンポジウム「肝細胞癌と肝移植」、第102回日本外科学会定期学術集会、2002.4.13、京都市。

5. 藤堂省:肝臓癌と肝移植、第1回周術期管理セミナー—生体肝移植をめぐる—、2002.4.13、名古屋市。

6. 藤堂省:肝臓癌の肝移植、第5回肝臓再発予防研究会、2002.5.10、豊中市。

7. 藤堂省:生体肝移植の現況について、札幌医科大学第4内科、2002.5.21、札幌市。

8. 藤堂省:肝臓癌の肝移植、肝がん撲滅運動学術講演会、2002.5.24、札幌市。

9. 藤堂省:臓器移植における動物実験の重要性、日本実験動物技術者協会第36回総会札幌、2002.6.21、札幌市。

10. 藤堂省:いのちの贈り物、札幌聖心女子学院父の会、2002.7.6、札幌市。

11. Sato Y, Maeda Y, Sasatomi T, Takahashi M, Une Y, Kondo M, Shinohara T, Hida N, Katagiri K, Sato K, Sato M, Yamada A, Yamanma H, Itoh K, Todo S, A phase I trial of CTL-precursor-oriented peptide vaccine for colorectal carcinoma patients. The 6<sup>th</sup> Annual Meeting of SFCI, Kurume, Japan. (2002.7.16-7.17)

12. 佐藤裕二, 前田好章, 正村裕紀, 篠原敏樹, 近藤正男, 高橋昌宏, 宇根良衛, 伊東恭悟, 藤堂省:消化器癌Precursor oriented vaccine 第1相臨床試験(研究室からオーダーメイド医療へ)、第57回日本消化器外科学会総会、2002年7月28-30、京都。

13. 藤堂省:院内コーディネーター・ドナーアクションに向けて(ドナーアクションの勉強会)、手稲溪仁会病院、2002.8.7、札幌市。

14. 藤堂省:ドナーアクションプログラムの推進について(ドナーアクションの勉強会)、中村記念病院、2002.8.22、札幌市。

15. 藤堂 省:「命の贈り物ー北海道における移植医療を考える」、名寄市移植フォーラム、2002.9.6、名寄市。
16. 藤堂 省:「小腸移植の現況と将来」、Ono Tokyo Forum 2002、2002.9.7、東京都。
17. 藤堂 省:「ドナーアクションプログラム推進について(ドナーアクションの勉強会)」、函館市立病院、2002.9.13、函館市。
18. 藤堂 省:「ドナーアクションプログラム推進について(ドナーアクションの勉強会)」、北見赤十字病院、2002.9.18、北見市。
19. 藤堂 省:「ドナーアクションプログラム推進について(ドナーアクションの勉強会)」、日鋼記念病院、2002.9.25、室蘭市。
20. 藤堂 省:「なぜドナーアクションなのか(ドナーアクションの勉強会)」、釧路労災病院、2002.9.27、釧路市。
21. 藤堂 省:「わが国の移植医療を考える、第40回日本人工臓器学会大会」、2002.10.3、札幌市。
22. 藤堂 省:「生命の贈り物ー移植医療をすすめるためにー」、日本消化器病学会北海道支部第19回市民公開講座、2002.10.4、釧路市。
23. 藤堂 省:「なぜドナーアクションプログラムなのか(ドナーアクションの勉強会)」、帯広厚生病院、2002.10.7、帯広市。
24. 藤堂 省:「臓器不足とその対策、北大移植セミナー」、2002.10.9、札幌市。
25. 藤堂 省:「なぜドナーアクションプログラムなのか(ドナーアクションの勉強会)」、旭川赤十字病院、2002.10.10、旭川市。
26. 佐藤裕二、前田好章、正村裕紀、宇根良衛、高橋昌宏、近藤正男、高橋周作、山名秀明、伊東恭悟、藤堂省:「胃癌、大腸癌に対するPrecursor-oriented peptideワクチン療法」第40回癌治療学会総会、2002年10月16-18、東京。
27. 27.佐藤裕二、正村裕紀、前田好章、近藤正男、高橋周作、伊東恭悟、藤堂省:「臨床的有効例よりみた胃癌、大腸癌に対するワクチン療法」第15回日本バイオセラピー学会総会、2002年11月7-8、札幌。
28. 藤堂 省:「生命の贈り物、スーパー・サイエンス・ハイスクール事業」、札幌市、2002.11.15、札幌北高。
29. 藤堂 省:「肝細胞癌と肝移植、第5回多摩外科がんフォーラム」、2002.11.16、東京都。
30. 藤堂 省:「生命の贈り物、第16回中央区PTA連合会研修会」、札幌市立三角山小学校、2002.11.22、札幌市。
31. 藤堂 省:「癌と肝移植、第80回日本消化器病学会九州支部例会・第74回日本消化器内視鏡学会九州支部例会」、2002.11.29、佐賀市。
- H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)
1. 特許取得  
なし
  2. 実用新案登録  
なし
  3. その他  
なし

