

新潟市、3月19日、2004

88. 山中龍也、森井研、高橋英明、恩田清、田中隆一 ProMace MOPP Hybrid 新潟大学変法による脳原発悪性リンパ腫の治療成績、第28回北日本脳神経外科連合会学術集会、福井市、5月6日-7日、2004

89. 山中龍也、芥川茂、田口文子、矢島直樹、土屋尚人、森井研、高橋英明、田中隆一、西條長宏、西尾和人悪性脳腫瘍症例の治療感受性を規定する遺伝子発現プロファイル解析、第22回日本脳腫瘍病理学会、新潟市、5月20日-21日、2004

90. 矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性脳腫瘍患者における腫瘍抗原SART3, Lck, MRP3の発現、第22回日本脳腫瘍病理学会、新潟市、5月20日-21日、2004

91. 峯孝志、矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するテラーメイド癌ペプチドワクチン療法第I/II相臨床試験、第8回基盤的癌免疫研究会総会、札幌、7月15日-7月16日、2004

92. 山中龍也、本間順平、矢島直樹、土屋尚人、阿部崇、成田美和子、高橋益広、田中隆一 再発悪性神経膠腫に対する樹状細胞を用いた腫瘍特異的免疫療法の第I/II相臨床試験、第8回基盤的癌免疫研究会総会、札幌、7月15日-7月16日、2004

93. 矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験、第5回分子脳神経外科学会、東京大学医学部鉄門記念講堂、9月4日-9月5日、2004

94. 本間順平、山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、阿部崇、成田美和子、高橋益広、田中隆一 再発悪性神経膠腫に対する樹状細胞を用いた腫瘍特異的免疫療法の第I/II相臨床試験、第5回分子脳神経外科学会、東京大学医学部鉄門記念講堂、9月4日-9月5日、2004

95. 山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、本間順平、田中隆一、三木徹 Guanine Nucleotide Exchange factor OSTへの結合分子の解析、第5回分子脳神経外科学会、東京大学医学部鉄門記念講堂、9月4日-9月5日、2004

96. 矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、峯

孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験、第63回日本癌学会総会、福岡、9月29日-10月1日、2004

97. 本間順平、山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、阿部崇、成田美和子、高橋益広、田中隆一 再発悪性神経膠腫に対する樹状細胞を用いた腫瘍特異的免疫療法の第I/II相臨床試験、第63回日本癌学会総会、福岡、9月29日-10月1日、2004

98. 矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験、第63回日本脳神経外科学会総会、名古屋、10月6日-8日、2004

99. 本間順平、山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、阿部崇、成田美和子、高橋益広、田中隆一 再発悪性神経膠腫に対する樹状細胞を用いた腫瘍特異的免疫療法の第I/II相臨床試験、第63回日本脳神経外科学会総会、名古屋、10月6日-8日、2004

100. 山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、本間順平、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するテラーメイドペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験、第63回日本脳神経外科学会総会、名古屋、10月6日-8日、2004

101. 土屋尚人、山中龍也、矢島直樹、田中隆一、池中一裕 HPLC(高速液体クロマトグラフィー)を用いたGlioma組織内N-結合型糖タンパク質糖鎖の解析、第63回日本脳神経外科学会総会、名古屋、10月6日-8日、2004

102. 矢島直樹、山中龍也、土屋尚人、本間順平、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験、第22回日本脳腫瘍学会、松島、10月17日-19日、2004

103. 本間順平、山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、阿部崇、成田美和子、高橋益広、田中隆一 再発悪性神経膠腫に対する樹状細胞を用いた腫瘍特異的免疫療法の第I/II相臨床試験、第22回日本脳腫瘍学会、松島、10月17日-19日、2004

104. 山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、本間順平、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 悪性神経膠腫に対するテラーメイドペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験-治験に向けて、第22回日本脳腫瘍学会、松島、10月17日-19日、2004

ン処置の併用療法：特願 2004-318161
(2004. 11. 1.)

【山名英明 分担研究者】
特になし

【山中龍也 分担研究者】
8. (出願番号) 特願2004-247849、
(発明者) 土屋尚人、山中龍也、池成一裕、
(発明の名称) 脳腫瘍の検出方法及びそれに用い
る脳腫瘍の検出物質

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

105. 山中龍也、矢島直樹、土屋尚人、本間順平、遠藤俊郎、峯孝志、山田亮、伊東恭悟、田中隆一 中枢神経系悪性黒色腫に対するCTL precursor-orientedペプチドワクチン療法第I /II相臨床試験, 第22回日本脳腫瘍学会、松島、10月17日-19日、2004

106. Yamanaka R. Phase I/II clinical trial of CTL precursor-oriented personalized peptide vaccine therapy for patients with malignant glioma. 21世紀のCOEプログラム「先端的な癌治療研究の拠点」国際シンポジウム, 久留米大学、11月27日、2004

H. 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. 上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) 由来ペプチド：特願2004-015676 (2004. 1. 23)

2. ストレス誘導抗アポトーシス分子 (IEX-1) 由来ペプチド：特願2004-026691 (2004. 2. 3)

3. 癌治療ペプチドワクチン：特願2004-182811 (2004. 6. 21)

4. 前立腺関連抗原由来HLA-A24結合ペプチド：特願2004-179311 (2004. 6. 17)

5. 上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) 由来ペプチド：PCT/JP2005/000786 (2005. 1. 21)

【植村天受 分担研究者】

特になし

【嘉村敏治 分担研究者】

特になし

【七條茂樹 分担研究者】

6. 上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) 由来ペプチド；
出願者：学校法人 久留米大学； 発明者：伊東恭悟 七條茂樹； 出願番号： 特願2004-015676；
出願日：2004. 1. 23

【藤堂省 分担研究者】

特になし

【野口正典 分担研究者】

7. ペプチドワクチン投与およびエストラムスチ

再燃前立腺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 植村 天受 近畿大学医学部教授

研究要旨： 内分泌不応再燃前立腺癌患者を対象として開発された57種類のペプチドを用いてテラーメイド癌ペプチドワクチンの第I相・早期第2相臨床試験を実施し、その安全性、特異的免疫誘導能、および臨床効果について検討した。その結果、評価可能な13例中4例にPSA値の低下を認め、CR（奏効期間12ヶ月）1例、PR2例、MR1例であった。いずれの症例においても投与ペプチドワクチン特異的な細胞性および液性免疫が誘導された。また、有害事象としてはほぼ全例に注射部の発赤・腫脹を認め、その他に皮疹、発熱、搔痒感など認めるものの、すべてJCOG Grade2以下の軽度なもので安全と考えられた。

A. 研究目的

内分泌不応再燃前立腺癌は、初期内分泌療法により有効であったものが種々の原因で効果が認められなくなった難治性の病態である。残念ながら、有効な治療法がなく、ほとんどの患者は救命できないのが現状である。本研究は再燃前立腺癌患者を対象に、HLA-A24及びA2ペプチドワクチンを用いたテラーメイド癌ワクチン療法の第I相・早期第2相臨床試験を実施して、その安全性、ペプチド特異的免疫誘導能、および臨床効果を検討する。

B. 研究方法

内分泌不応再燃前立腺癌患者を対象として開発されたペプチドワクチン57種類（A24用25種類、A2用32種類）の癌ペプチドワクチンのうち、患者特異免疫系（末梢血リンパ球中のT細胞もしくは血中IgG抗体）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種類投与する。ペプチドワクチン療法後に病勢の進行した症例には低用量エストラムスチンなどとの併用療法を行う。実際には、選択されたペプチドワクチン各3mgをアジュバントを混和し、患者大腿内側皮下に2週間間隔で6回注射する。これを1クールとし、各クールごとに再度採血し、スクリーニングの上投与ワクチンを決定していく。各クールごとに安全性、治療効果、免疫反応性について評価する。

（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、本研究分担者ら及び他の研究協力医師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り15～30ml採血して研究に供している。

3) 第I相臨床試験についての配慮点：①GMP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社へ依頼して作成し（*Nature Med.* 4 : 321, 1998）無菌試験およびシーケンスを久留米大学免疫学教室にて再確認した後、施設内での審査委員会での審査を経て臨床試験を実施する。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）を得て常時実施する。さらに、担当医師や看護師を中心として被験者およびその家族の疑問に答え不安に対応するための常時カウンセリングを行う体制を可及的にひいている。

C. 研究結果

内分泌不応再燃前立腺癌へのペプチドワクチン単独療法の副作用は局所反応が主体であり、安全性が確認された。また、低用量エストラムスチンなど他の治療との併用療法においてもgrade2以上の有害事象は認めなかった。いずれもワクチン投与部位の変更やワクチン投与の一時中断で改善した。ワクチン投与による免疫反応性は、前立腺癌細胞に対する特異的殺細胞効果を50%に各投与ペプチドに対する抗IgG抗体反応をほぼ100%に認めた。臨床効果としてはワクチン単独療法でPSA167→1.7ng/dlへ著明に低下し、約1年間奏効したCR例を経験し、その他PSAが50%以上および25-50%低下したPR2例、MR1例を経験した。

D. 考察

内分泌不応答性再燃前立腺癌症例に対するテラーメイドペプチドワクチン単独療法は、これまでに久留米大学泌尿器科において行われてき

たが、ほとんどの症例でLHRH製剤が併用されていた。今回行った症例は4週間の観察期間を含めて完全なワクチン単独療法にて安全性および免疫反応性を検討した。その結果は局所反応などの軽度なものが多く（JCOG grade2以下）重篤な有害事象を認めなかった。また各ペプチドワクチン投与により、特異的CTLの誘導および特異的抗体（IgG）誘導が認められた。今回経験したResponder4例に関しては、いずれの症例も過去にMAB（LHRH+anti-androgen）、エストラムスチンなどが使用され、再燃してきたことから、ワクチン投与による宿主の特異的免疫誘導が治療効果の結果と考えられた。

E. 結論

内分泌不応再燃前立腺癌患者を対象として開発された57種類のペプチドを用いてテーラーメイド癌ペプチドワクチンの第I相・早期第2相臨床試験を実施し、その安全性、ペプチド特異的誘導能、および臨床効果を解析した。その結果、ワクチン単独療法においてもLH-RH併用療法と有害事象に差はなく安全であると思われた。また約30%にresponderを認めたことから、治療効果を期待できる有望な免疫療法であることが示唆された。

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）

なし

1-2. 論文発表（和文査読誌掲載論文）

なし

1-3. 論文発表（総説・プロシーディング・その他）

なし

1-4. 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. H Uemura, K Fujimoto, M Tanaka, N Tanaka, E Okajima, Y Hirao. Tailor-made peptide vaccines for hormone refractory prostate cancer. The 7th German-Japanese Confederation Meeting; 2004. 6. 12-16, Austria.

2. H Uemura, K Fujimoto, M Tanaka, N Tanaka, E Okajima, Y Hirao. Patient-oriented vaccine

therapy for hormone refractory prostate cancer. The 20th Urological Research Society Meeting ; 2004.9.28-30, Seoul.

2-2. 国内学会発表（口頭・ポスター発表）

1. 植村天受、藤本清秀、清水一宏、中西まこ、田中基幹、平尾佳彦. 腎細胞癌および前立腺癌に対する癌ペプチドワクチン療法の臨床検討. 第13回泌尿器科分子細胞研究会 ; 2004年2月27-28日, 東京.

2. 植村天受. 内分泌不応再燃前立腺癌に対するオーダーメイドペプチドワクチン療法. 第11回近畿前立腺シンポジウム ; 2004年3月12日, 大阪.

3. 植村天受. 難治性腎細胞癌と再燃前立腺癌の癌ワクチン療法. 第60回日本泌尿器科学会茨城地方会 特別講演 ; 2004年6月19日, 筑波.

4. 植村天受、上島成也、田中基幹、藤本清秀、平尾佳彦、吉川和宏、伊藤恭悟. 難治性腎癌ならびに前立腺癌に対するペプチドワクチン療法の治療成績. 第42回日本癌治療学会総会 ; 2004年10月27日-29日, 京都.

5. 植村天受. 癌ワクチン療法—開発から臨床応用まで—. 第33回 Shizuoka Uro-Oncology Forum ; 2005年1月15日, 浜松.

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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 陽性の子宮頸癌患者を対象としてテーラーメイドペプチドワクチンの前向き臨床試験を実施しテーラーメイド型投与の優位性が立証した(Mochizuki et al., Int J Oncol. 25 : 121,2004)後に、個々の症例にてテーラーメイド型投与に変更して長期にフォローアップした。その結果、前向き試験にて投与された4ペプチドのうち3ペプチドまでが投与前リンパ球中に免疫記憶されていた症例においては、著明な腫瘍縮小が得られ、CTによる画像評価では腫瘍消失が認められた。バイオプシーでは癌細胞が組織学的に確認されるものの著効例と判断されその持続期間は10ヶ月の長期に及ぶ。

A. 研究目的

テーラーメイドワクチン前向き試験として再発子宮頸癌を対象にした非テーラーメイド型ペプチドワクチン第I相・早期2相臨床試験を実施し、安全性、特異的免疫誘導能及び臨床効果を検討する。即ち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）に高頻度に認識されることが先行する臨床試験にて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、及び臨床効果と投与前キラーT細胞との相関を解析した。

（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

昨年度より引き続き免疫ワクチン療法を行っている6人の患者に加えて、今年度は新たに4人の再発子宮頸癌患者に本投与法を施行した。10人を解析し臨床評価は3人が6回投与終了後にstable diseaseであり、7人がprogressive diseaseであった。免疫学的評価は8人にペプチド特異的CTL前駆体の上昇を認め、6人にペプチド特異的IgG抗体の上昇を認めた。有害事象は局所の発赤、熱感を認める程度でいずれもgrade 1相当であった。投与ペプチドに対する免疫応答と臨床効果には相関が無かった。急激に病状の進行した例は投与前に存在した他のペプチド抗体価の減少を認めた。ペプチド投与による免疫治療はオーダーメイドによる投与が治療的に優れていることが示唆された。また前向き試験の個々の症例にてテーラーメイド型投与に変更して長期にフォローアップした結果、前向き試験にて投与された4ペプチドのうち3ペプチドまでが投与前リンパ球中に免疫記憶されていた症例においては、著明な腫瘍縮小が得られ、CTによる画像評価では腫瘍消失が認められた。バイオプシーでは癌細胞が組織学的に確認されるものの著効例と判断されその持続期間は10ヶ月の長期に及ぶ。

D. 考察

高度進行子宮頸癌ではテラーメイドペプチドワクチンが一部の症例において著効が得られた。しかしその他の症例では進行が早く臨床効果が得られなかった。今後、より早期の症例に対しての臨床試験が望まれる。また、子宮頸癌の発癌因子であるヒトパピローマウイルス由来の抗原ペプチドを同定してワクチンに使用するなどの研究が望まれる。

E. 結論

①再発子宮頸癌症例に対する新規ペプチドを追加してのテラーメイド型ペプチドワクチン第I相・第2相臨床試験の安全性が確認された。②細胞性免疫と液性免疫増強が過半数で認められた。③著効例は得られなかったが、前向き試験にて投与された4ペプチドのうち3ペプチドまでが投与前リンパ球中に免疫記憶されていた症例においては、著明な腫瘍縮小が得られ、CTによる画像評価では腫瘍消失が認められた。

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. Xiao H, Kamura T, et al., Co-expression of Y Box-binding protein-1 and P-glycoprotein as a prognostic marker for survival in epithelial ovarian cancer. *Gynecol Oncol*, 93 : 287-291, 2004.

2. Yamamoto K, Kamura T, et al., Pulmonary metastasectomy for uterine cervical cancer: a multivariate analysis. *Ann Thorac Surg*, 77 : 1179-1182, 2004

3. Tsuda N, Kamura T, et al. Vaccination with pre-designated or evidence-based peptides for patients with recurrent gynecologic cancers. *J Immunother*, 27: 60-72, 2004.

4. Mine T, Kamura T et al. Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res*, 10:927-937, 2004.

5. Onda T, Kamura T, et al., Feasibility study of neoadjuvant chemotherapy followed by interval cytoreductive surgery for stage III/IV ovarian, tubal and peritoneal cancers. *Jpn J Clin Oncol*, 34:43-45, 2004.

6. Mochizuki K, Kamura T et al., Immunological

evaluation of vaccination with pre-designated peptides frequently selected as vaccine candidates in an individualized peptide vaccination regimen. *Int J Oncol*, 25:121-131, 2004.

7. Nishida N, Kamura T et al., Vascular endothelial growth factor C and vascular endothelial growth factor receptor 2 are closely related to prognosis of ovarian carcinoma. *Cancer*, 101:1364-1374, 2004.

8. Onda T, Kamura T, et al., Cisplatin, paclitaxel and escalating doses of doxorubicin (TAP) in advanced ovarian cancer: a phase I trial. *Jpn J Clin Oncol*, 34:540-546, 2004

9. Kuwano M, Kamura T, et al., The role of nuclear Y-box binding protein 1 as a global marker in drug resistance. *Mol Cancer Ther*, 3:1485-1492, 2004

10. Takemoto Y, Kamura T, et al., Antiproliferative effects of interferon- α con1 on ovarian clear cell adenocarcinoma in vitro and in vivo. *Clin Cancer Res*, 10:7418-7426, 2004

1-2. 論文発表 (和文査読誌掲載論文)
牛嶋公生, 嘉村敏治, 他: 子宮頸がんIII期症例における治療成績と障害. *日本婦人科腫瘍学会雑誌* 2004 ; 22 : 327-333.

1-3. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)
牛嶋公生, 嘉村敏治, 他: 進行子宮腫瘍. *産婦人科の実際*, 2004 ; 53 : 383-389.

1-4. 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. Kamura T. Cisplatin resistance and transcription factor YB-1 in ovarian cancer. The 8th Symposium of the Japanese-German Society, Berlin, Germany (2004.9.13~17)

2. Ushijima K, Kamura T et al., Phase II study of docetaxel and carboplatin in patients with recurrent epithelial ovarian cancer after first-line treatment with paclitaxel and / or platinum. The 10th Biennial International Gynecologic Cancer Society meeting (IGCS), Edinburgh, UK (2004.10.3~7)

3. Nishio S, Kamura T et al., Clinicopathological prognostic factors of FIGO stage III C endometrial carcinoma. The 10th Biennial International Gynecologic Cancer Society meeting (IGCS), Edinburgh, UK(2004.10.3~7)

2. 実用新案登録
特になし

3. その他
特になし

2-2. 国内学会発表 (口頭・ポスター発表)

1. Ushijima K, Kamura T et al., Expression of Y box-binding protein-1, P-glycoprotein, and topoisomerase II α as a prognostic marker for survival in epithelial ovarian cancer. 第56回日本産科婦人科学会学術講演会2004年4月10-13, 東京

2. Nagayama S, Kamura T et al., The investigation on correlation of production of ANP with fetal growth in Dahl salt sensitive rat with pregnancy-induced hypertension. The 20th The Fetus as a Patient. 2004年4月23-26, 福岡

3. Nishio S, Kamura T et al., Fertility preserving treatment for malignant germ cell tumors of the ovary. The 50th Annual congress of the Japan section. The internal college of surgeons. 2004年6月19, 久留米

4. 西田直代, 嘉村敏治, 他: 上皮性卵巣腫瘍における血管新生因子VEGF-Cとその受容体VERGRRの発現. 第56回日本産科婦人科学会学術講演会, 2004年4月10-13, 東京

5. 竹本由美, 嘉村敏治, 他: Interferon- α con1による卵巣明細胞腺癌のin vitro及びin vivoにおける増殖抑制作用の検討, 第56回日本産科婦人科学会学術講演会, 2004年4月10-13, 東京

6. 望月一生, 嘉村敏治, 他: 再発子宮頸癌に対する非テラーメイドペプチドワクチン投与の免疫学的評価と臨床効果, 第56回日本産科婦人科学会学術講演会, 2004年4月10-13, 東京

7. 望月一生, 嘉村敏治, 他: 治療不応癌、再発癌に対するpre-designated peptide vacciner療法の評価, 第63回日本癌学会総会, 2004年9月29-10月1, 福岡市

8. 牛嶋公生, 嘉村敏治, 他: 卵巣癌における薬剤耐性関連蛋白YB-1, P-glycoproteinの発現と予後, 第63回日本癌学会総会, 2004年9月29-10月1, 福岡市

H. 知的財産権の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
特になし

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：（目的）本年度は以下の2点を中心に研究を行った。1）テラーメイドワクチンの対象を広げ、より効果を上げるために新規遺伝子およびペプチドの同定、2）抗ペプチド抗体の抗腫瘍性の分子機構解明や単クローン抗体による癌治療動物モデルなどを通して上皮性癌拒絶の分子基盤の全体像を明らかにするためのペプチド抗体産生ハイブリドーマを樹立する。（結果）新規の多数の抗原及びペプチドを同定した。例えば大腸癌において抗癌剤抵抗性を付与するTYMS蛋白由来ペプチドがHLA-A2拘束性に大腸癌局所CTLによって認識されている事を見出し、またHLA-A3スーパーファミリーに拘束されるペプチドを複数同定し、癌ペプチドワクチンの分子基盤を構築した。更に「臨床→基礎研究」では、これまで免疫療法はその臨床効果を反映するマーカーが皆無の状態であったが、我々はテラーメイド癌ペプチドワクチンによる臨床効果と抗ペプチド抗体(IgG)が相関する事を見出した。この発見は今後の免疫療法の進展に寄与するものと思われる。

A. 研究目的

- 1) 免疫系が認識する抗原ペプチドは、個々の患者により異なることが、我々がこれまでにやってきた臨床試験から明らかになった。さらに、免疫系が認識するペプチドを選んでワクチン投与する方が、特定のペプチドを投与するよりも臨床効果が得られることが示唆された。従って、より多種類のワクチン候補ペプチドから各患者に適したペプチドを選択した方がよりよい効果が得られると考えられた。そこで、本年度も癌組織浸潤リンパ球(TIL)から樹立した細胞傷害性T細胞(CTL)が、HLA-クラスI A及びBアレル拘束性に認識する拒絶抗原遺伝子およびペプチドを同定する事にした。
- 2) T細胞が認識するエピトープ（ペプチド）は通常分子表面に存在しないものが多いことから、ペプチドに対する抗体が癌細胞表面の抗原を認識して癌細胞を傷害する可能性は低い。従ってペプチドに対する抗体の生物学的機能は現時点で不明である。そこで、抗ペプチド抗体の抗腫瘍性の分子機構解明や単クローン抗体による癌治療動物モデルなどを通して上皮性癌拒絶の分子基盤の全体像を明らかにする。

B. 研究方法

- 1) 新規ワクチン候補ペプチドの同定： ①癌組織浸潤リンパ球(TIL)からHLA-クラスI Aアレル（A24, A2, A26, A3スーパーファミリー）拘束性CD8⁺CTL株及びHLA-Bアレル

(B46, B52) 拘束性CD8⁺CTL株を樹立し、②それらにより認識される抗原遺伝子とペプチドを遺伝子発現クローニング法により同定し、③癌ペプチドワクチン分子を決定する。一方、特定の癌腫で高発現していることが知られ、標的分子として考えられる既知の分子（例えば、EGFR, HER2/neu, など）に関しては、HLA-A2およびHLA-A24結合モチーフを有するペプチドから癌患者血清中に抗体があるものを選び、これらの中からCTL誘導能の有無でペプチドを同定する。これらの方法によりペプチドワクチン候補の拡大と充実をはかる。

- 2) 抗ペプチド抗体の基礎研究： ①SART3、Lck、PSMペプチドに対する単クローン抗体をマウス作製する。また、②それらを用いてペプチド抗体の抗腫瘍作用誘導の分子レベル及び動物実験での解析を実施する。

（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」には該当しない。
- 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、本研究分担者ら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り15～30ml採血して研究に供している。

C. 研究結果

- 1) 当分担者は、主に新規ペプチドワクチンのための候補ペプチドの同定を行ってきた。昨年度遺伝子発現クローニング法により同定した

HLA-A31 拘束性 CTL 株が認識する RL1, α -tubulin 5, CGI37, KIAA0036 (Takedatsu et al) およびそれらの HLA-A3 supertype 拘束性ペプチドの同定 (Takedatsu et al)、胃癌患者 TIL 由来の HLA-A33 拘束性 CTL 株が認識する IEX-1 (Sasada et al) に引き続き、大腸癌患者 tumor infiltrating lymphocyte (TIL) 由来の HLA-B46 拘束性 cytotoxic T lymphocyte (CTL) 株が認識する p53, HSC70 (Azuma et al)、SF-2, ITPA (Shichijo et al)、同 HLA-A2 拘束性 CTL 株が認識する TYMS, PGK1 (Shichijo et al)、胃癌患者 TIL 由来の HLA-A33 拘束性 CTL 株が認識する RAN (Azuma et al)、HLA-A26 拘束性食道癌患者由来 CTL 株が認識する RPS2, L10a (Koga et al)、および肺癌患者 TIL 由来の HLA-B52, B62 拘束性 CTL 株が認識する Testin (Ohkouchi et al) のエピトープペプチドの同定を行った。また、ペプチドワクチンの臨床試験結果の解析から、ペプチドに対する抗体が癌患者に高頻度に存在、あるいはワクチンとして投与する事により抗体価が上昇する事と、ワクチンの効果に関連がある事が示唆された (Mine et al) 事から、抗体の有無でスクリーニングした後、患者末梢血からの CTL 誘導能を有するペプチドを選択する方法で、以下、HLA-A2 (Ishihara et al)、-A24 (Azuma et al) 拘束性 Her2/neu, HLA-A2 (Shoumura et al)、-A24 (Shoumura et al) 拘束性 EGFR の分子由来エピトープペプチドを同定した。

- 2) テーラーメイド癌ペプチドワクチンの臨床試験で、その実生存期間と免疫反応性との解析を行った結果、これまで免疫療法はその臨床効果を反映するマーカーが皆無の状態であったが今回我々はテーラーメイド癌ペプチドワクチンによる臨床効果と抗ペプチド抗体 (IgG) が相関する事を見出した。すなわち、投与ペプチドに対する特異的 IgG 抗体価が 2 倍以上に増強したグループにおいてのみ有意差をもって生存期間の延長が認められた。
- 3) 9-mer からなるペプチド抗原に対する抗体は、通常のタンパク質に対する抗体と異なり、新規に発見したペプチド抗体の機能解析のため、SART3-109 単クローン抗体産生ハイブリドーマを樹立した。これまでの解析より新規の Fc 部分を保有する既存 IgG サブクラスに属しない抗体の存在が示唆された。現在、本抗体を産生するハイブリドーマより免疫グロブリンをコードする遺伝子をクローニングし、その遺伝子配列から抗体の解析を進めている。

D. 考察

- 1) 本年度も新規の抗原ペプチドを多数同定した

が、HLA-A24 や -A2 以外の症例へのペプチドワクチン開発を目指して A3 スーパーファミリー (HLA-A3, -A11, -A31, -A33) 拘束性ペプチドを多数同定した事が特筆される。これにより、HLA-A24 及び -A2 拘束性ペプチドワクチン (日本人の 7.5%。また世界では 60% 前後の癌患者に) 限定されていたペプチドワクチンがほぼ 100% の症例まで適応拡大できる可能性が示された。

- 2) 免疫療法における臨床効果判定のマーカーとして、抗ペプチド抗体が有力な指標になり得ることが示唆されたことは、今後、免疫療法の進展に寄与するものと思われる。
- 3) 一方、T 細胞エピトープ (ペプチド) に対する抗体の生体内における役割に関しては未だ不明であり、作成したモノクローナル抗体の解析あるいはこれを用いた動物実験などで、今後検討していく予定である。

E. 結論

1) ①新規の多数の抗原及びペプチドを同定した。例えば大腸癌において抗癌剤抵抗性を付与する TYMS 蛋白由来ペプチドが HLA-A2 拘束性に大腸癌局所 CTL によって認識されている事を見出した。② HLA-A3 スーパーファミリーに拘束されるペプチドを複数同定し、癌ペプチドワクチンの分子基盤を構築した。③ テーラーメイド癌ペプチドワクチンによる臨床効果と抗ペプチド抗体 (IgG) が相関する事を見出した。

2) T 細胞エピトープ (ペプチド) に対するモノクローナル抗体を産生するハイブリドーマクローンを樹立した。この抗体は anti-IgG で認識されるにも拘わらず Protein G に結合しないことから、現在分子レベルでの解析を進めている。

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. Mine T, Sato Y, Noguchi M, Sasatomi T, Gouhara R, Tsuda N, Tanaka S, Shomura H, Katagiri K, Rikimaru T, Shichijo S, Kamura T, Hashimoto T, Shirouzu K, Yamada A, Todo S, Itoh K, and Yamana H: Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res*, 10(3), 929-937, 2004.

2. Takedatsu H, Shichijo S, Katagiri K, Sawamizu H, Sata M and Itoh K: Identification of peptide vaccine candidates sharing among HLA-A3⁺, -A11⁺, -A31⁺, and -A33⁺ cancer patients. *Clinical Cancer Research*, 10(3), 1112-1120, 2004.

3. Ishihara Y, Harada M, Azuma K, Tamura M, Shoumura H, Fujii T, Itoh K, and Shichijo S: HER2/neu-derived peptides recognized by both cellular and humoral immune system in HLA-A2+ cancer patients. *International Journal of Oncology*, 24(4), 967-975, 2004.

4. Koga M, Komatsu N, Kawamoto N, Shichijo S, Itoh K, and Yamada A: Analysis of cellular localization of SART3 tumor antigen by a newly established monoclonal antibody: Heterotopic expression of SART3 on the surface of B-lineage leukemic cells. *Oncology Reports*, 11(4), 785-789, 2004.

5. Shomura H, Shichijo S, Matsueda S, Kawakami T, Sato Y, Todo S, and Itoh K: Identification of epidermal growth factor receptor-derived peptides immunogenic for HLA-A2+ cancer patients. *British Journal of cancer*, 90, 1563-1571, 2004.

6. Azuma K, Shichijo S, Shomura H, Matsueda S, Fujii T, and Itoh K: Identification of HER2/neu-derived peptides capable of inducing both cellular and humoral immune responses in HLA-A24 positive breast cancer patients. *Breast Cancer Research and Treatment*, 86, 19-29, 2004

7. Sasada T, Takedatsu H, Azuma K, Koga M, Maeda Y, Shichijo S, Shoumura H, Hirai T, Takabayashi A, and Itoh K.: IEX-1, a stress inducible anti-apoptotic gene, encodes CTL epitopes capable of inducing HLA-A33-restricted and tumor-reactive CTLs in gastric cancer patients. *Can Res*, 64, 2882-2888, 2004.

8. Komatsu N, Shichijo S, Nakagawa M, and Itoh K: New multiplexed flow cytometric assay to measure anti-peptide antibody: A novel tool for monitoring immune responses to peptides used for immunization. *The Scandinavian journal of Clinical & Laboratory Investigation*, 64, 535-546, 2004.

9. Shichijo S, Azuma K, Komatsu N, Ito M, Maeda Y, Ishihara Y, and Itoh K: Two proliferation-related proteins, TYMS and PGK1, could be new CTL-directed tumor-associated antigens of HLA-A2+ colon cancer. *Clinical Cancer Research*,; 10(17): 5828-36, 2004

10. Shomura H, Shichijo S, Komatsu N, Matsueda S, Mine T, Rikimaru T, Sato Y, Todo S, Itoh K: Identification of epidermal growth factor receptor-derived

peptides recognized by both cellular and humoral immune responses in HLA-A24+ non-small cell lung cancer patients. *European Journal of Cancer* 40, 1776-1786, 2004

11. Azuma K, Sasada T, Takedatsu H, Shomura H, Koga M, Maeda Y, Yao A, Hirai T, Takabayashi A, Shichijo S, and Itoh K: *Ran*, a small GTPase gene, encodes CTL epitopes capable of inducing HLA-A33-restricted and tumor-reactive CTLs in cancer patients. *Clinical Cancer Research*, 10, 6695-6702, 2004

12. Takedatsu H, Okamura T, Yoshimoto K, Harada M, Koga M, Shichijo S, Sata M, Itoh K: Expression of epithelial cancer-related antigens in hematologic malignancies applicable for peptide-based immunotherapy. *J Immunother*. 27(4):289-97, 2004.

13. Shichijo S, Ishihara Y, Azuma K, Komatsu N, Higashimoto N, Ito M, Nakamura T, Ueno T, Harada M, and Itoh K: ABCE1, a member of ATP-binding transporter gene, encodes peptides capable of inducing HLA-A2-restricted and tumor-reactive cytotoxic T lymphocytes in colon cancer patients. *Oncology Reports*, (in press), 2005.

1-2. 論文発表・（和文査読誌掲載論文）
なし

1-3. 論文発表（総説・プロシーディング・その他）
なし

1-4. 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）
なし

2-2. 国内学会発表（口頭・ポスター発表）

1. 正村裕紀、七條茂樹、松枝智子、前田好章、近藤正男、佐藤裕二、藤堂省、伊東恭悟：HLA-A2陽性肺癌患者の細胞性および液性免疫両者によって認識されるEGFR由来ペプチドの同定、第8回基盤的癌免疫研究会総会、札幌、7/15-16/2004

2. 笹田哲郎、東公一、竹田津宏子、古賀真、前田好章、正村裕紀、七條茂樹、高林有道、伊東恭悟：胃癌組織由来の細胞傷害性T細胞株を用いた新た

な HLA-A33 拘束性癌抗原エピトープの同定、第 63 回 日本癌学会学術総会、福岡、9/29-10/1/2004

3. 小松誠和、七條茂樹、伊東恭悟：フローメトリーによるペプチド抗体測定とワクチンモニタリング、第 63 回 日本癌学会学術総会、福岡、9/29-10/1/2004

4. 石原愉希、七條茂樹、東公一、小松誠和、伊東恭悟：大腸癌患者由来 HLA-A2 拘束性 CTL が認識する kinesin family と考えられる新規遺伝子の同定、第 63 回 日本癌学会学術総会、福岡、9/29-10/1/2004

5. 正村裕紀、七條茂樹、松枝智子、前田好章、近藤正男、佐藤裕二、藤堂省、伊東恭悟：HLA-A24 陽性肺癌患者の細胞性および液性免疫両者によって認識される上皮成長因子受容体 (EGFR) 由来ペプチドの同定、第 63 回 日本癌学会学術総会、福岡、9/29-10/1/2004

6. 東公一、七條茂樹、石原愉希、小松誠和、伊東恭悟：HLA-A2 大腸癌患者における CTL により認識される Thymidylate synthase 由来抗原ペプチドの同定、第 63 回 日本癌学会学術総会、福岡、9/29-10/1/2004

7. 田中将博、小松誠和、七條茂樹、伊東恭悟：ペプチド抗体価測定による膵臓癌診断の検討、2004 日本免疫学会総会、札幌、12/1-3/2004

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

上皮細胞増殖因子受容体 (EGFR) 由来ペプチド；出願者：学校法人 久留米大学； 発明者：伊東恭悟、七條茂樹； 出願番号： 特願2004-015676； 出願日：2004. 1. 23

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

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・大腸癌に対するテラーメイドペプチドワクチンの第Ⅰ相、第Ⅱ相試験にて有効性とその指標を検討した。検討項目は1)特異的CTL、特異的抗体、DTHと予後、2)ワクチン投与前スクリーニングの有効性、3)臨床上有効例の特徴、4)本療法の限界と今後である。胃癌25例、大腸癌28例の53例が登録された。全例安全に施行され、Grade 3以上の有害事象は認めず、QOLの面でも良好な結果が得られた。1クール(6回投与)以上施行できた胃癌16、大腸癌24例については、特異的CTL、特異的抗体、DTHと予後の関連が示唆された。胃癌において投与前スクリーニングの有効性が認められた。スキルス胃癌に有効例が多かった。以上の結果より本療法が新たな胃癌・大腸癌の治療薬となりうることを示唆された。しかし、1クール(6回投与)以上施行できた40例ではそのほとんどが手術、化学療法施行後であることより、PR1, SD18例と比較的良好ではあるが、満足すべき成績ではない。さらに臨床応用に向けて、本ワクチン療法の効果増強と化学療法の有害事象減少をはかり、QOLを維持する治療法を確立するため、胃癌・大腸癌で広く使用されているTS-1およびテガフルとの併用試験を7例に施行中である。

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、種々の治療法の開発にもかかわらず、そのほとんどの症例は2年以内に死亡する。その主な原因は、抗癌剤耐性など薬剤の有効性の低下とQOLの低下で必要量の投薬ができないなど患者側の要因である。投与できない等の理由である。また、このような例に対して、その治療がその個人に有効であるかどうかを早期に見極める必要がある。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、その有効例の予測を行った。

B. 研究方法

胃癌・大腸癌再発、stageⅣ症例の化学療法無効例を対象とした。登録基準として75歳以下、P S0-2、4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、血液学的所見がWBC>3, 500, Hb>9. 0, PLT>100, 000, Cr<1. 5, T-Bil<2. 0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血漿中に特異的CTL(cytotoxic T lymphocytes), 抗ペプチド抗体が存在するペプチド4種を選択することを原則とし、2週毎6回投与を1クールとした。

TS-1との併用試験ではTS-1の投与方法は28日間連日投与14日休薬を2クール行い、TS-1の用量は80mg, 40mg, 20mg, 0mg/体表面積 m^2 /日の4段階で行った。テガフルとの併用試験では、テガフルの投与は一日量を1日1回直腸内に、12週間連日行った。用量は、250mg、500mg、750mg、1000mg/body/日の4

段階で行った。

その有効性は原則としてRECIST基準、有害事象はNCI 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(delayed type hypersensitivity; 7mm以上陽性)、各種癌細胞cell lineに対するcytotoxicityの増強を1クール投与毎に測定し比較検討した。また、本療法の特徴であるprecursor oriented vaccine 療法の有効性、有効例の特徴を検討することにより本療法の限界と今後の展望について考察した。

(倫理面への配慮)

- 1) 本研究は「人のクローンに関する研究等」に該当する恐れはないと判断される。
- 2) 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社へ依頼して作成し(Nature Med. 4:321, 1998)無菌試験およびシーケンスを久留米大学免疫学教室にて再確認した後、北海道大学の倫理委員会の審査を経て、臨床試験を実施した。
- 3) 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患者および家族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にカウンセリングを行う体制をととのえている。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

第 I、II 相試験で胃癌25例、大腸癌28例の53例が登録された。全例安全に施行され、Grade 3以上の有害事象は認めず、そのほとんどはGrade Iの局所反応であった。従って、QOLの面でも良好な結果が得られた。1クール(6回投与)以上施行できたのは胃癌16、大腸癌24例であった。胃癌16例では、特異的CTLの増加4/7(57.1%)、特異的抗体9/11(81.8%)、DTH陽性4/16(25.0%)であり、このうちスキルスは13例でそれぞれ4/5(80%)、6/10(60%)、2/13(15.4%)であった。大腸癌24例では、それぞれ4/10(40%)、6/10(60%)、7/24(29.1%)。これら40例について、有意に予後の延長が得られたのはCTLの増加(P=0.016)、DTH陽性(P=0.018)であり、特異的抗体では、抗体価の増強・変化なし群に有意傾向があった。Precursor oriented による投与法の有効性を検討した。4種決めうち群7例と本療法群18例を比較した結果有意にprecursor oriented 群に生存率の延長があった(P=0.011)。有効性の指標の検討では、スキルス胃癌が非スキルス胃癌に比較して生存率の延長傾向(P=0.117)、投与前患者リンパ球20%以上(P=0.0004)、投与後リンパ球20%以上(P=0.0003)が生存延長に寄与した。スキルス胃癌では、当科の腹膜転移陽性スキルス胃癌生存中央値5.9ヶ月に対して、本治療群7.0ヶ月であった。逆に、生存に負の因子としてuncountable metastases(比例ハザードモデルによる多変量解析:除外P値0.013)、投与前リンパ球数20%未満(0.010)、投与後リンパ球減少5%以上(0.006)、血清アルブミン値3.5g/dl未満(0.017)であった。胃癌16例の効果はSD10、PD6例で、大腸癌24例では、PR1、SD8、PD15例であった。長期生存例は胃癌(いずれもスキルス)2例(32、33ヶ月)、大腸癌1例(32ヶ月)であった。

胃癌大腸癌TS-1併用第 I 相試験は胃癌2例、大腸癌3例が登録された。胃癌大腸癌テガフル併用第 I 相試験では胃癌1例、大腸癌1例が登録された。これら第 I 相試験の7例について有害事象はgrade I下痢1例、grade Iの局所発赤5、好中球減少1例であった。第 I 相試験の臨床効果は、NC2例、P D5例であった。

D. 考察

1クール(6回投与)以上施行できた胃癌、大腸癌の40例ではそのほとんどが手術、化学療法施行後であり、他の治療法がないことで登録された症例である。それを考慮するとPR1、SD18例は比較的良好ではあり、長期生存も3例に得られた。しかし、その3例も概ね2年前後で再燃を来し、32-33ヶ月で死亡した。また、当科のスキルス胃癌切除7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(s

tage Iは除く)であり、現在有効な治療法がない。HLA-A24およびA2の高度進行再発胃癌・大腸癌を対象としたテラーメード癌ペプチドワクチン第 I 相および早期第 II 相臨床試験は重篤な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た。臨床効果に関しては単独投与例でのPR症例は1例にとどまり、ワクチン療法単独での有意な臨床効果は得られたとは判断できなかった。一方ワクチン療法と5-FU系の抗癌剤を併用するとワクチン単独もしくは化学療法単独に比して有意な生命予後の延長を示唆する結果が得られた。したがって化学療法剤との併用による臨床効果の上乗せ効果の有無を確認することがワクチン療法を臨床応用するために必要であると考え、併用療法の安全性と有効性の確立をめざし臨床試験を開始した。

E. 結論

現在ペプチドワクチン、抗癌剤併用療法の臨床試験に7例が参加しているが重篤な有害事象は認めておらず、併用療法は安全に施行できることが示唆される。臨床効果に関しては有意な腫瘍縮小効果は得られていないが、高度進行がん症例においてPerformance Statusの維持に寄与していることが示唆され、今後、本免疫療法を有効にする抗癌剤(TS-1、FT-207)の至適投与量の決定が重要と考えられた。

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.Hata T, Takahashi H, Watanabe K, Takahashi M, Taguchi K, Itoh T, Todo S: Magnetic Resonance Imaging for Preoperative Evaluation of Breast Cancer: A Comparative Study with Mammography and Ultrasonography, Journal of the American College of Surgeons 198(2): 190-197, 2004 Feb.

2.Shomura H, Shichijo S, Matsueda S, Mine T, Rikimaru T, Sato Y, Todo S, Itoh K: Identification of epidermal growth factor receptor-derived peptides recognized by both cellular and humoral immunities in HLA-A24⁺ non-small cell lung cancer patients. European J. Cancer 40(11):1776-86,2004.

3.Kishino S, Ogawa M, Takekuma Y, Sugawara M, Shimamura T, Furukawa H, Todo S, Miyazaki K: The Variability of liver graft function and urinary 6β-hydroxycortisol to cortisol ratio during liver regeneration in liver transplant recipients, Clinical Transplantation 18: 124-129, 2004 March

4. Mine T, Sato Y, Noguchi M, Sasatomi T, Gouhara R, Tsuda N, Tanaka S, Shomura H, Katagiri K, Rikimaru T, Shichijo S, Kamura T, Hashimoto T, Shirouzu K, Yamada A, Todo S, Itoh K, Yamana H: Humoral Responses to Peptides Correlate with Overall Survival in Advanced Cancer Patients Vaccinated with Peptides Based on Pre-existing, Peptide-Specific Cellular Responses, *Clinical Cancer Research* 10: 929-937, 2004 Feb.
5. Sato Y, Maeda Y, Shomura H, Sasatomi T, Takahashi M, Une Y, Kondo M, Shinohara T, Hida N, Katagiri K, Sato K, Sato M, Yamada A, Yamana H, Harada M, Itoh K, Todo S: A Phase I trial of cytotoxic T-lymphocyte precursor-oriented peptide vaccines for colorectal carcinoma patients, *British Journal of Cancer* 90: 1334-1342, 2004 March
6. Shomura H, Shichijo S, Matsueda S, Kawakami T, Sato Y, Todo S, Itoh K: Identification of epidermal growth factor receptor-derived peptides immunogenic for HLA-A2⁺ cancer patients. *British J. Cancer* 90(8):1563-71, 2004.
7. Sato Y, Kondo M, Kohashi S, Takahashi N, Takahashi S, Shinohara T, Ono K, Matsuda M, Ryoma Y, Shiroto H, Kondo Y, Uchino J, Saito K, Todo S: Randomized controlled study of immunochemotherapy with OK-432 after curative surgery for gastric cancer. *J Immunother* 27(5): 394-397, 2004.
8. Motizuki K, Sato Y, Tsuda N, Shomura H, Sakamoto M, Matsuura K, Ushijima K, Maeda Y, Katagiri K, Yamada A, Todo S, Kamura T, Harada M, Itoh K, : Immunological evaluation of vaccination with pre-designated peptides frequently selected as vaccine candidates in an individualized peptide vaccination regimen. *International J Oncology* 24:121-131, 2004
- 1-2. 論文発表 (和文査読誌掲載論文)
1. 中西一彰、神山俊哉、中川隆公、蒲池浩文、倉内宣明、松下通明、藤堂省：特集 消化器疾患に対するクリニカルパスの評価 11. 肝臓外科 外科 66(1)：60-65, 2004 Jan.
2. 川村秀樹、神山俊哉、倉内宣明、中川隆公、蒲池浩文、横山良司、工藤岳秋、下國達志、松下通明、藤堂省：^{99m}Tc-GSAシンチグラフィを用いた肝障害度別換算ICGR₁₅による肝予備能の評価 日本消化器外科学会雑誌37(1)：14-20, 2004 Jan.
3. 砂原正男、神山俊哉、佐藤直樹、倉内宣明、伊東東一、大久保尚、片山知也、松下通明、藤堂省：下大静脈閉塞を伴った多包性肝エキノкокクス症 2 切除例の検討 日本消化器外科学会雑誌 37(2)：165-170, 2004 Feb.
4. 岸野克志、馬淵朋美、武隈洋、菅原満、嶋村剛、古川博之、藤堂省、宮崎勝巳：生体部分肝移植患者におけるLinezolid (Zyvox) の体内動態 TDM研究21(1)：21-25, 2004 Feb.
5. 陳孟鳳、嶋村剛、鈴木友己、谷口雅彦、中山雅人、太田稔、中西一彰、中川隆公、神山俊哉、松下通明、古川博之、藤堂省：特集 肝臓外科一課題とその対応—グラフト機能不全の病態と対応 肝胆膵4(2)：241-249, 2004 Feb.
6. 陳孟鳳、嶋村剛、鈴木友己、谷口雅彦、太田稔、蒲池浩文、中西一彰、中川隆公、倉内宣明、神山俊哉、松下通明、古川博之、藤堂省：特集 外科手術と阻血・虚血の諸問題 II. 肝の阻血 4. 脳死肝移植における肝保存と阻血再灌流障害 外科66(2)：148-154, 2004 Feb.
7. 高橋将人、渡邊健一、田口和典、高橋弘昌、伊藤智雄、藤堂省：ステレオガイド下吸引補助乳房針生検 (マンモトーム生検) の有用性と問題点 日本臨床外科学会雑誌65(2)：302-306, 2004 Feb.
8. 柴崎晋、佐藤裕二、近藤正男、高橋周作、篠原敏樹、藤堂省：残胃多発癌を含む異時性4重複癌の1例 日本臨床外科学会雑誌65(2)：544-548, 2004 Feb.
9. 神山俊哉、松下通明、藤堂省：消化器病診療—良きインフォームド・コンセントに向けて 肝切除 (監修 日本消化器病学会) 医学書院 pp355-358, 2004 April
10. 平田珠希、佐藤隆啓、山崎克、赤池淳、桑田靖昭、大村卓味、狩野吉康、豊田成司、松下通明、神山俊哉、中川隆公、藤堂省：肝巨大血管腫によるKasabach-Merritt症候群の1例 肝臓 45(1)：33-38, 2004 April
11. 岡田忠雄、佐々木文章、長和俊、廣方玄太郎、藤堂省：特集 膵・胆管合流異常のトピックス 出生前診断例の治療 小児外科36(4)：456-461, 2004 April

12. 山岡義生、沖田極、小俣政男、藤堂省：座談会 肝臓—これからの課題— 月刊カレントセラピー22(5)：524-530, 2004 May

13. 蒲池浩文、倉内宣明、藤堂省：特集 胆嚢結石症治療のガイドライン作成に向けて 胆嚢結石症治療のアルゴリズムとクリニカルパス 胆道18(2)：138-144, 2004 May

14. 後藤了一、佐藤裕二、近藤正男、津田一郎、高橋周作、許理威、篠原敏樹、工藤謙三、藤堂省：自然緩解を繰り返したS状結腸捻転症の1例、北海道外科学会雑誌49(1), 33-37, 2004.

1-3. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)

なし

1-4. 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)

Living Donor Liver Transplantation for Patients with Hepatocellular Carcinoma: Experience in Japan, American Surgical Association 124th Annual Meeting, San Francisco, USA, 2004.4.15

2-2. 国内学会発表 (口頭・ポスター発表)

講演：映像による私の手術手技「V8・V5静脈再建及び門脈グラフトを要する成人生体右葉肝移植」、第104回日本外科学会定期学術集会、大阪市、2004.4.9

H. 知的財産権の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

3. その他

特になし

再燃前立腺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 野口 正典 久留米大学医学部助教授

研究要旨：再燃前立腺癌に関しては、第 I 相臨床試験においてペプチドワクチン療法の安全性が確認され、さらに数例においては PSA の低下、骨転移の消失が認められた。また、低用量エストラムスチン併用で臨床効果が増すことや、低容量でのエストラムスチン併用ではペプチドワクチン療法による免疫反応を抑制しないことが判明した。2003 年より従来のペプチドに前立腺特異抗原である PSA, PAP, PSMA 由来の新規ペプチド(PSA152, PSA248, PAP213, PSMA624)を加え、再燃前立腺癌に対してテーラーメイド型ペプチドワクチン療法の早期第 II 相臨床試験を行っている。本年度は、これまで 6 回以上のワクチン投与が可能であった症例についてその安全性、有害事象、免疫応答、臨床効果等について検討した。その結果、全例に重篤な有害事象を認めず、59%の症例に細胞性免疫応答を、76%に液性免疫応答を認め、また、本療法施行群が historical control 群に比較して予後の改善を認めた。

A. 研究目的

再燃前立腺癌は本邦においても急速に増加している。しかし、有効な治療法がなく、国民の最も関心の高い疾患のひとつである。本研究は再燃前立腺癌患者を対象に、HLA-A24及びA2癌ペプチドワクチン第 I 相・早期第 II 相臨床試験を実施して、その安全性、ペプチド特異的誘導能、及び臨床効果を解析する。本年度は、1) 再燃前立腺癌に対して臨床効果の向上を目的に新規ペプチドでの試験、およびエストラムスチンとの併用効果を重点的に解析する。2) 前立腺全摘症例において術前にワクチン投与を行い免疫学的、病理組織学的効果を検討する。3) HLA-A24及びA2前立腺癌に対する新規ペプチド開発のために、前立腺全摘標本における各種抗原を分析し、前立腺癌患者のIgG抗体により認識される抗原ペプチドをELISA法で同定する。

B. 研究方法

再燃前立腺癌患者を対象として開発された新規ペプチドを追加して32種類（A24用16種類、A2用16種類）の癌ペプチドワクチンのうち、患者特異免疫系（末梢血リンパ球中のT細胞もしくは血中IgG抗体）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投与する。ペプチド療法後に病勢の進行した症例には低用量エストラムスチンとの併用療法を行う。これは、これまでに行ってきた第 I 相臨床試験での再燃前立腺癌に対する癌ペプチドワクチン療法患者のうち無効症例に対して低用量エストラムスチン併用療法を試みたところ非常に高い頻度に有効例を認め（14例中8例、57%）、これまでそれぞれの単独療法で得られた20～30%の有効率に比較して約2倍の有効率であった。そのため早急

に本併用療法による臨床効果について検討する必要があると判断された。さらに、局所限局性前立腺癌に対してペプチドワクチン6回投与後に前立腺全摘術を行い摘出前立腺組織を免疫学的、病理組織学的に詳細に検討した。

（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、本研究分担者ら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り15～30ml採血して研究に供している。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社へ依頼して作成し（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する。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）を得て常時実施する。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。

C. 研究結果

ホルモン不応性再燃前立腺癌に対してテーラーメイド型ペプチドワクチン療法と低用量エストラ

ムスチンの併用療法を行い、これまで6回以上のワクチン投与が可能であったのは49症例であった。ホルモン不応性前立腺癌へのペプチドワクチン単独療法の副作用は局所反応が主体であり、安全性が確認された。また、低用量エストラムスチンとの併用療法においてもgrade IIIとgrade IVの有害事象が49例中4例及び1例のみであった。いずれもワクチン投与部変更やエストラムスチンの一時中断で改善した。免疫反応としてはCTL反応を59%に抗体反応を76%に認めた。また、ペプチドワクチン投与後前立腺全摘術を施行した症例では、前立腺内にコントロールに比較してCD4, CD8陽性のTリンパ球浸潤を認めた。臨床効果としてはワクチン単独ではPR 4例のみであり全体的には増悪までの期間は2ヶ月であり、単独療法の限界が確認された。しかしながら、低用量エストラムスチンと併用した78% (全てエストラムスチン不応性例) においては抗腫瘍効果がありPR7例に達し、生存期間 (中央値) も24ヶ月の達し、医薬品承認レベルに達し、現在併用療法の治験申請中である。

D. 考察

ホルモン不応性再燃前立腺癌症例に対するテーラーメイドペプチドワクチン単独療法および増悪後の低用量エストラムスチン併用療法を終了した。その結果、安全性および高い免疫誘導能が確認された。臨床効果では、特に併用療法症例の全例にて抗腫瘍効果が得られ、既存の各種治療法に比して優位な生命予後の延長が認められた。ワクチンやエストラムスチン単独ではいずれも有効性の得られない症例において、両者の併用が高い有効性が得られた事作用機序は不明である。可能性としては、癌細胞の多様性からくる頑健性(ロバストネス)に対して併用療法が有効である事が示唆される。即ち末期の再燃前立腺癌には抗アンドロゲン剤非依存性癌細胞、エストロゲン剤非依存性癌細胞、ムスチン抵抗性癌細胞、ペプチドワクチン抵抗性(HLA抗原喪失)癌細胞の混在が考えられる。それらは遺伝子変化により発現するが、すべての遺伝子変化が同一癌細胞に発現される頻度は比較的低率であり、したがって複合的治療法が、単剤療法より有効である。今後検討を継続する必要があると考えられる。

E. 結論

再燃前立腺癌患者を対象として開発された32種類のペプチドを用いてテーラーメイド癌ペプチドワクチンの第I相・第II相臨床試験を実施し、その安全性、ペプチド特異的誘導能、及び臨床効果を解析した。ホルモン不応性再燃前立腺癌に対してテーラーメイド型ペプチドワクチン療法と低用量エ

ストラムスチンの併用療法を行い、これまで6回以上のワクチン投与が可能であった49症例についてその安全性、有害事象、免疫応答、臨床効果等について検討した。

1. 全例に重篤な有害事象を認め無かった。
2. 59%の症例に細胞性免疫応答を、76%に液性免疫応答を認めた。
3. 本療法施行群が historical control 群に比較して予後の改善を認めた。

以上の結果より、ホルモン不応性再燃前立腺癌患者に対する本療法のユウヨウ性が示唆され、多数例での臨床試験が推奨されると考えられた。

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. Noguchi M, Itoh K, Suckane S, Yao A, Suetsugu N, Katagiri K, Yamada A, Yamana H, Noda S.: Phase I trial of patient-oriented vaccination in HLA-A2-positive patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Sci* 95-1 : 77-84,2004
2. Noguchi M, Noda S, Yoshida M, Ueda S, Shiraiishi T, Itoh K and the Kurume-Kumamoto Estracyt Study Group: Chemohormonal Therapy As Primary Treatment For Metastatic Prostate Cancer: A Randomized Study Of Estramustine Phosphate Plus LHRH Agonist Versus Flutamide Plus LHRH Agonist. *Int J Urol* 11 : 103-109,2004
3. Mine T, Sato Y, Noguchi M, Sasatomi T, Gouhara R, Tsuda N, Tanaka S, Shomura H, Katagiri K, Rikimaru T, Shichizo S, Kamura T, Hashimoto T, Shirouzu K, Yamada A, Todo S, Itoh K and Yamana H.: Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res* 10 : 929-967,2004
4. Matsueda S, Kobayashi K, Nonaka Y, Noguchi M, Itoh K, Harada M.: Identification of new prostate stem cell antigen-derived peptides immunogenic in HLA-A2+ patients with hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Immunol Immunother* 53 : 479-489,2004
5. Noguchi M, Itoh K, Suckane S, Morinaga A, Sukehiro A, Suetsugu N, Katagiri K, Yamada A, Noda S.: Immunological Monitoring During Combination of Patient-Oriented Peptide Vaccination and Estramustine Phosphate in Patients With Metastatic Hormone Refractory Prostate Cancer. *Prostate* 60 : 32-45,2004

6. Matsueda S, Yao A, Ishihara Y, Ogata R, Noguchi M, Itoh K, and Harada M.: A prostate stem cell antigen-derived peptide immunogenic in HLA-A24+ prostate cancer patients Prostate 60 : 205-213,2004

7. Yao A, Harada M, Matsueda S, Ishihara Y, Shomura H, Noguchi M, Matsuoka K, Hara I, Kamidono S, Itoh K.: Identification of parathyroid hormone-related protein-derived peptides immunogenic in human histocompatibility leukocyte antigen-A24+ prostate cancer patients. Br J Cancer 91 : 287-296,2004

8. Harada M, Matsueda S, Yao A, Otaga R, Noguchi M, Itoh K.: Prostate-related antigen-derived new peptides having the capacity of inducing prostate cancer-reactive CTLs in HLA-A24+ prostate cancer patients. Oncology Reports 12 : 601-607,2004

9. Ogata R, Matsueda S, Yao A, Noguchi M, and Itoh K.: Identification of polycomb group protein enhancer of zeste homolog 2 (EZH2)-derived peptide immunogenic in HLA-A24+ prostate cancer patients. Prostate 60 : 273-281,2004

10. Noguchi M, Shimada A, Yahara J, Suekane S, Noda S.: Early catheter removal 3 days after radical retropubic prostatectomy. Int J Urol 11 : 983-988, 2004

1-2. 論文発表 (和文査読誌掲載論文)

1. 出口大輔、森健策、目加田慶人、長谷川純一、鳥脇純一郎、野口正典：仮想前立腺に対する針生検シミュレーションシステムの開発。電子情報通信学会論文誌 D-II J87-D-II : 281-289, 2004

2. 野口正典、野田進士、松岡啓：根治的前立腺全摘術後のQOL：術式によるQOLへの影響。西日本泌尿器科 66-4 : 226-234, 2004

3. 末次典江、田村真由美、野口正典、助廣亜希、伊東恭吾：癌ペプチドワクチン療法中の再燃前立腺癌患者のQOLについて。九大医保健紀要 4 : 47-56, 2004

1-3. 論文発表 (総説・プロシーディング・その他)

1. 野口正典、伊藤恭悟、松岡啓：テーラーメイド型ペプチドワクチン—第II相試験から創薬化へ—泌尿器外科17(臨増):475-48, 2004

2. 野口正典：特集 前立腺生検の最前線 説明、禁忌と合併症、前処置。臨床泌尿器科 : 58-7, 2004

1-4. 論文発表 (著書)

野口正典：男性機能の老化を学び、老化を防ぐ。老化を学び老化を防ぐ。佐川公矯、石川達也編、五紘舎、東京 : 61-73, 2004

2. 学会発表

2-1. 海外学会発表 (口頭・ポスター発表)

1. Noguchi M, Shimada A, Yahara J, Suekane S, Matsuoka K: Early catheter removal 3 days after radical retropubic prostatectomy. The 19th Congress of the European Association of Urology, Vienna, Austria. March 24-27, 2004.

2. Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Yamada A, Matsuoka K: Immunological evaluation of individualized peptide vaccination with low dose of estramustine for HRPC patients. The 19th Congress of the European Association of Urology, Vienna, Austria. March 24-27, 2004.

3. Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Yamada A, Matsuoka K: Immunological Monitoring during Combination of Patient-Oriented Peptide Vaccination and Estramustine Phosphate in Patients with Metastatic Hormone Refractory Prostate Cancer. SIU, Honolulu, Hawaii. October 3-7, 2004

4. Noguchi M, Deguchi D, Toriwaki J, Mori K, Mckada Y, Matsuoka K.: Evaluation of prostate biopsy strategy for cancer detection using a computer simulation system with virtual needle biopsy of a 3-D prostate model. SIU, Honolulu, Hawaii. October 3-7, 2004

5. Suekane S, Noguchi M, Nakashima O, Kojiro M, Matsuoka K.: Percentage of cancer length on systematic sextant biopsies is an independent predictor of pathological features of prostate cancers after radical prostatectomy SIU, Honolulu, Hawaii. October 3-7, 2004

6. Noguchi M: Individualized peptide vaccination with a low dose of estramustine for hormone refractory prostate cancer patients 2004 International Forum 「Forefront of Personalized Cancer Therapy, September 27, 2004, Kurume

2-2. 国内学会発表 (口頭・ポスター発表)

1. 末金茂高、野口正典、中島収、神代正道、松岡啓：繰り返し前立腺生検にて発見された前立腺癌の臨床病理学的特長の検討。第92回日本泌尿器科学会総会、平成16年4月10日-13日、大阪市

2. 野口正典、末金茂高、山田亮、伊東恭悟、松岡啓：HLA-A2陽性再燃前立腺患者に対するテーラーメイド型癌ペプチドワクチン療法の第Ⅰ相臨床試験。第92回日本泌尿器科学会総会、平成16年4月10日-13日、大阪市
3. 八尾昭久、原田守、野口正典、原勲、守殿貞夫、伊東恭悟：HLA-A24前立腺癌患者で免疫原性を有するparathyroid hormone-related protein由来抗原ペプチドの同定。第92回日本泌尿器科学会総会、平成16年4月10日-13日、大阪市
4. 野口正典：久留米大学に於ける医師主導型新薬開発。久留米大学臨床試験研修セミナー講演会
平成16年5月11日、久留米大学
5. 野口正典：再燃前立腺癌に対するテーラーメイド型癌ペプチドワクチン療法。筑後泌尿器科医会第41回研修会、平成16年5月18日、久留米市
6. 野口正典：前立腺生検アンケート調査集計結果。第4回九州前立腺癌臨床課題研究会、平成16年6月12日、長崎市
7. 野口正典：久留米大学および関連施設における前立腺癌内分泌療法について（J-CAP研究より）。筑後泌尿器科医会第42回例会学術講演会、平成16年6月24日、久留米市
8. 八尾昭久、野口正典、末金茂高、松岡啓、原勲、守殿貞夫、山田亮、伊東恭悟：再燃前立腺癌を対象としたテーラーメイド型癌ペプチドワクチン療法の第Ⅰ相臨床試験。第8回基盤の癌免疫研究会総会
平成16年7月15日（木）～16日、札幌市
9. 野口正典：医師主導型新薬開発の現況。北九州市泌尿器科医会・平成16年度第3回研修会
平成16年9月9日、北九州市
10. 野口正典、伊東恭悟、山田亮、松岡啓：ホルモン不応性再燃前立腺癌に対するテーラーメイド型癌ペプチドワクチン療法の有用性。第42回 日本癌治療学会総会、平成16年10月27日～29日、京都府
11. 野口正典、鳥脇純一郎、松岡啓：3次元仮想前立腺モデルに対する前立腺針生検シミュレーション：至適生検法の検討。第42回 日本癌治療学会総会、平成16年10月27日～29日、京都府
12. 末金茂高、野口正典、鳥脇純一郎、松岡啓：前立腺全摘標本より作製した3次元仮想前立腺モデルを用いた前立腺針生検戦略。第42回 日本癌治療学会総会、平成16年10月27日～29日、京都府
13. 野口正典、伊東恭悟、山田亮、松岡啓：再燃前立腺癌に対するテーラーメイド型ペプチドワクチン療法：第Ⅱ相試験から創薬化へ。第56回日本泌尿器科学会西日本総会、平成16年11月11日～13日、大分市
14. 野口正典：TULの実際
福岡佐賀手術手技研究会、平成16年12月1日、福岡市
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定を含む）
1. 特許取得
ペプチドワクチン投与およびエストラムスチン処置の併用療法：特願2004-318161（2004. 11. 1.）
 2. 実用新案登録
特になし
 3. その他
特になし