

200728007B

厚生労働科学研究費補助金
肝炎等克服緊急対策研究事業

新規癌胎児性抗原を利用した 肝細胞癌の診断と治療に関する研究

平成17年度～19年度 総合研究報告書

主任研究者 木下平

平成20(2008)年3月

目 次

I. 構成員名簿	-----	1
II. 総合研究報告		
新規癌胎児性抗原を利用した肝細胞癌の診断と治療	-----	3
主任研究者 国立がんセンター東病院上腹部外科 木下 平		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	17
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	25

I. 構成員名簿

新規癌胎児性抗原を利用した肝細胞癌の
診断と治療に関する研究班

区分	氏名	所属	職名
主任研究者	木下 平	国立がんセンター東病院上腹部外科	病棟部長
分担研究者	古瀬 純司	国立がんセンター東病院肝胆膵内科	病棟医長
	中面 哲也	国立がんセンター東病院臨床開発センター がん治療開発部機能再生室	室長
	千住 覚	熊本大学大学院医学薬学研究部 免疫識別学分野	准教授
	佐々木 裕	熊本大学大学院医学薬学研究部 消化器内科学分野	教授
研究協力者	西村 泰治	熊本大学大学院医学薬学研究部 免疫識別学分野	教授

II. 総合研究報告書

新規癌胎児性抗原を利用した肝細胞癌の診断と治療

主任研究者 木下 平 国立がんセンター東病院 上腹部外科 病棟部長

研究要旨

本研究は、肝細胞癌に特異的に高発現する新規癌胎児性抗原として同定した Glypican-3(GPC3)を、癌の診断と治療に利用することを目的としてスタートし、平成17年度から19年度の3年間の研究を終了した。17年度の研究成果により、GPC3とSPARCが早期メラノーマの優れた血清腫瘍マーカーとなることを示した。また、GPC3由来のマウスキラーT細胞エピトープペプチドを同定して、免疫療法に関するマウス *in vivo* モデルを構築し、GPC3を標的とした養子免疫療法および樹状細胞ワクチンの有効性と安全性を証明した。さらにヒトキラーT細胞を誘導できるGPC3ペプチドを2種類同定し、これらのペプチドを用いた、肝細胞癌の臨床試験のプロトコールを作成した。また、モデル腫瘍抗原を発現させたマウスES細胞より分化誘導した樹状細胞(ES-DC)を用いて、有効な腫瘍免疫を誘導することに成功した。18年度はマウスによる前臨床試験およびペプチドの安全性試験を実施し、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得て19年2月から国立がんセンター東病院において進行肝細胞癌患者を対象としたGPC3由来ペプチドワクチンの臨床第I相試験を開始した。安全性に問題はなく、ほとんどの症例で末梢血中ペプチド特異的細胞傷害性T細胞(CTL)の頻度の増加が検出され、免疫学的有効性も確認された。劇的ではないが臨床効果も見出され、その効果には投与量依存性も示唆された。19年度のその他の成果として、約20%の慢性肝炎・肝硬変患者の末梢血中にGPC3ペプチド特異的にIFN- γ を産生するCTLの存在が認められ、そのGPC3ペプチド特異的CTL陽性患者血漿中に、陰性の患者血漿では低く、肝細胞がん患者血漿での発現レベルに近いピークを1種類見つけた。今後はこれらが肝細胞がんの超早期診断に有用であるかどうかを検討していく。また、初回治療の肝細胞がん患者(RFA9例、肝切除術9例、動脈塞栓術9例)を対象にした、それぞれの治療前後における末梢血中のGPC3特異的CTLの推移の検討により、RFA治療や動脈塞栓術により腫瘍部位を壊死に陥らせることによって、GPC3を含めた腫瘍由来の様々ながん抗原に対する特異的免疫応答を誘導できる可能性が示唆された。免疫組織化学的解析においては、肝臓がんにおける肝細胞がん成分と胆管細胞がん成分の鑑別に、GPC3の免疫染色が極めて有用であることが示された。また、GPC3を発現しない肝細胞がんでは、発現するものに比べ、有意に予後が良好であった。ES-DCの研究においては、ヒトES細胞および今話題のiPS細胞から樹状細胞を分化誘導する培養プロトコールを開発した。

以上より、この3年間で所期の目標を十分に満たす成果が得られた。次年度以降にこれらの研究をさらに発展させる。

分担研究者

中面 哲也 国立がんセンター東病院
臨床開発センター がん治療開発部
機能再生室 室長
古瀬 純司 国立がんセンター東病院肝胆膵内科
病棟医長
千住 寛 熊本大学大学院医学薬学研究部
免疫識別学分野 准教授
佐々木 裕 熊本大学大学院医学薬学研究部
消化器内科学 教授

研究協力者

西村 泰治 熊本大学大学院医学薬学研究部
免疫識別学分野 教授

A. 研究目的

肝細胞癌の治療としては、根治的治療としての肝切除、ラジオ波焼灼療法(RFA)などの局所壊死療法、ならびに進行癌に対する動脈塞栓療法や化学療法が広く行われている。しかしこれらの治療では根治的治療後においても他部位再発が高率に認められ、進行癌では根治は難しく、早晚肝機能が低下し、既存の治療では制御が難しくなることが問題となる。今後、肝細胞癌を発症する可能性があるC型肝炎患者は、我が国に200万人以上存在すると推定されており、肝細胞癌の発生および再発の早期発見法、ならびに診断確率の向上、予防および再発予防法や患者の負担が少ない有効な治療法の開発が重要である。

本研究は、肝細胞癌に特異的に高発現する新規癌

胎児性抗原である Glypican-3 (GPC3) を用いた肝細胞癌の診断法、ならびに GPC3 を標的とするペプチドワクチンを用いた新しい肝細胞癌の治療法の開発を目的とする。平成 17 年度より 3 年間の研究計画として発足した本研究において、以下の事項を解明することを目指す。

- (1) 血清 GPC3 の測定により、肝細胞癌の診断確率を向上させる。また肝細胞癌の発生と再発の早期発見、ならびに胆管細胞癌との鑑別が可能であるかについて検討する。
- (2) マウス *in vivo* 実験と患者リンパ球を用いた *in vitro* 実験により開発した、GPC3 を標的とする免疫療法について、国立がんセンター東病院において第 I 相臨床試験により、その安全性と免疫学的有効性を検証する。
- (3) 新たな癌免疫療法の開発を目指して、強い腫瘍抗原特異的 T 細胞応答を誘導できる樹状細胞をヒト ES 細胞より分化誘導する方法を確立する。無限増殖を持つ ES 細胞由来の樹状細胞 (ES-DC) を利用して、抗腫瘍免疫を強力に誘導できる細胞ワクチンの開発を目指す。

B. 研究方法、C. 研究結果

[平成 17 年度の成果]

千住覚、西村泰治：GPC3 と SPARC が早期メラノーマの優れた腫瘍マーカーとなることを示した。GPC3 由来のマウスキラー T 細胞エピトープペプチドを同定して、免疫療法に関するマウス *in vivo* モデルを構築し、GPC3 を標的とした養子免疫療法および樹状細胞ワクチンの有効性と安全性を証明した。また、モデル腫瘍抗原を発現させたマウス ES 細胞より分化誘導した樹状細胞 (ES-DC) を用いて、有効な腫瘍免疫を誘導することに成功した。

中面哲也：結合ペプチドの構造モチーフが HLA-A24 のそれと同一であるマウスの H-2K^d、あるいは HLA-A2 により提示される GPC3 由来のマウスキラー T 細胞エピトープペプチドを、それぞれ 1 種類ずつ同定した。これらのペプチドを用いた免疫療法がマウスに自己免疫現象を誘導することなく、抗腫瘍効果を発現することを証明し、さらに HLA-A24 あるいは HLA-A2 を所有する肝細胞がん患者の約 50% の末梢血リンパ球より、これらの GPC3 ペプチドに特異的、かつ GPC3 陽性肝細胞癌細胞株を傷害するキラー T 細胞を誘導できた。以上の研究成果をもとにして、HLA-A24 あるいは A2 結合性 GPC3 ペプチドワクチンを用いた肝細胞がん根治治療後補助療法の臨床第 I/II 相試験のプロトコールを作成し、国立がんセンター倫理審査委員会に提出した。

佐々木裕：肝細胞癌の腫瘍マーカーとしての有用性

を検証するために、患者検体を収集した。肝細胞癌では酸化ストレスは Mt からの Cyt. C の放出を促すが、同時に誘導される細胞死抑制系とのバランスで細胞死が決定されることを示した。加えて血清 Cyt. C 濃度は、酸化ストレスによる Mt 障害や種々の細胞内応答の指標となりうる可能性を示した。

木下平：肝癌治療成績を検討した。1992 年 7 月から 2001 年 8 月までに当院で治療をおこなった 968 例を対象とした。初回治療は単発の 40% が切除、28% が ablation、20% が TAE または TAI、その他が 12% であった。多発では 27%、9%、50%、14% であった。予後規定因子を比例ハザードモデルにより検討すると、Vp、腫瘍径、腫瘍数、治療法、臨床病期、部位が有意な予後因子となった。治療成績の検討結果より、国立がんセンター東病院の治療方針が妥当であることを示した。

古瀬純司：肝細胞癌に対するエタノール注入 (PEI) あるいはラジオ波焼灼 (RFA) による経皮的局所壊死療法施行例における局所制御および再発率を検討し、治療後補助療法の前向き臨床試験の妥当性の検証と historical control を作成した。対象は 1992 年 7 月から 2004 年 12 月までに PEI または RFA を施行した初回治療例 134 例である。局所コントロール不能例は PEI 6 例 (6.8%)、RFA 3 例 (6.6%)、全体で 9 例 (6.7%) であった。累積再発率は 1 年 31%、3 年 75%、5 年 89%。PEI と RFA の治療別では累積再発率に差は認めなかった。肝切除でもほぼ同様の再発率を認めており、局所壊死療法と切除を含めた包括的な補助療法の臨床試験が妥当であることを示した。

[平成 18 年度の成果]

木下平、古瀬純司、中面哲也：臨床試験の最善のプロトコール作成のため、マウスを用いて、臨床試験で用いる 2 種類の GPC3 ペプチドと共に投与する至適アジュバントの検討を行なった。ペプチド単独では無効で、不完全フロイントアジュバント (IFA) と混合すると有効になる事を証明し、臨床試験ではペプチドと IFA の混合物を投与する事にした。ペプチドの投与量、投与回数についてもマウスを用いて検討し、CTL の誘導能がペプチド投与量に依存し、1 回の免疫では無効で 2-4 回の免疫が有効であることを示した。したがって第 I 相臨床試験では、投与回数を 3 回、投与量を 0.3, 1.0, 3.0 mg の 3 段階とし、安全性を確認しながら容量を増やしていく設定にして、免疫学的モニタリングにより、次相の至適投与量、投与回数を決める方針にした。

当初、ペプチドワクチンを用いた肝細胞がん根治的治療後補助療法の臨床第 I/II 相試験のプロトコールを作成し、国立がんセンター倫理審査委員会に

申請したが、動物を使った毒性試験と、対象を進行癌患者に変更する事を要求されたため、第三者機関である日本生物科学センター岐阜研究所に依託し、GPC3 ペプチドのマウスを用いた単回皮下投与毒性試験を実施し、安全性を確認した。上記のプロトコールに従って、進行癌患者を対象とする第 I 相試験を計画し、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得て、平成 19 年 2 月から臨床試験を開始した。

千住寛、西村泰治：バイオモザイク社の GPC3 ELISA キットによる血清 GPC3 測定の信頼性を確認し、HCC 患者血清中の GPC3 を検出できることを示した。さらに、GPC3 由来のヒトキラー T 細胞 (CTL) エピトープペプチドで、HCC 患者の末梢血単核細胞を刺激して樹立した CTL 細胞株を、GPC3 発現ヒト HCC 細胞株を皮下移植した NOD/SCID マウスの静脈内に投与することにより、腫瘍の増殖を抑制できることを証明した。また、モデル抗原遺伝子を導入したヒト ES 細胞より分化誘導した樹状細胞 (ヒト ES-DC) を用いて、ヒト T 細胞に抗原特異的な免疫応答を誘導することに成功した。さらにヒト ES-DC の抗腫瘍免疫療法への応用の可能性を示唆した。

佐々木裕：肝癌細胞株を対象に酸化ストレスである過酸化水素 (H_2O_2) 刺激下に遺伝子発現、蛋白質発現の網羅的解析を行った。遺伝子発現の網羅的解析では、刺激後早期の 1 時間、3 時間で 1.5 倍以上の発現亢進を認めた遺伝子はそれぞれ約 150 個、約 520 個であった。それらの中にはアポトーシス関連遺伝子、細胞内情報伝達関連遺伝子、転写関連遺伝子などが含まれていた。一方、刺激前後で蛋白質発現あるいはリン酸化の変化を評価した。リン酸化蛋白質の発現量の変化は約 40-180% であり、質量分析器にてこれらリン酸化蛋白質が主に細胞骨格や分子シャペロンに関与する蛋白質であることが判明した。これらの結果を統合した Key Molnet による pathway 解析から、酸化ストレス刺激後早期から転写や細胞接着に関連する分子群が誘導され、細胞応答としてのアポトーシスを誘導することが示唆された。

[平成 19 年度の成果]

1) 進行肝細胞がん患者を対象とした Glypican-3 を標的とするペプチドワクチンの臨床第 I 相試験

木下平、古瀬純司、中面哲也：投与回数を 2 週間おきに 3 回、投与量を 0.3, 1.0, 3.0 mg の 3 段階とし、安全性を確認しながら容量を増やしていく設定にした。免疫学的モニタリングと RECIST 基準による臨床効果を総合的に判定して、次相の至適投与量を決める方針とした。現在、レベル 3 の最大投与量 3.0mg で試験継続中であり、レベル 2 の投与量 1.0mg まで評価が終了した。計 14 例の安全性に問題はなく、レベル 1 の 0.3mg の 8 例中 7 例に末梢血中ペプ

チド特異的 CTL の頻度の増加が検出され、3 回のワクチン投与を完遂し 1 ヶ月後に CT で評価した 6 人中 3 人が SD で、3 人は PD であった。またレベル 2 の 1.0mg では、6 例中 5 例に末梢血中ペプチド特異的 CTL の頻度の増加が検出され、3 回のワクチン投与後 1 ヶ月後の CT の評価では 6 人中 4 人が SD で、2 人は PD であった。なお、評価病変の腫瘍径の総和の推移をグラフ化すると、ワクチン登録数ヶ月前の CT と比較できた 9 人中 7 人において、ワクチン投与により、腫瘍径の総和の増大の程度が抑制されていることが示された。現在、レベル 3 の最大投与量 3.0mg の登録予定 6 例中 4 例が終了したところであるが、その 4 例の安全性に問題はなく、3 回のワクチン投与後 1 ヶ月後の CT の評価では 4 人中 3 人が SD で、1 人は PD であった。この 4 例には腫瘍マーカーの減少や腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小など臨床効果も認められている。

2) 慢性肝炎・肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性 T 細胞の出現頻度の検討に関する研究

中面哲也：本研究は東京労災病院との共同研究であり、東京労災病院の慢性肝炎・肝硬変患者の検体を国立がんセンター東病院臨床開発センターで解析した。各患者末梢血から単核細胞を分離し、HLA-A24 ならびに HLA-A2 結合性 GPC3 ペプチドを用いて ELISPOT assay を行った。慢性肝炎・肝硬変患者 47 症例中 10 症例 (21%) の末梢血中に GPC3 ペプチド特異的に IFN- γ を産生する細胞傷害性 T 細胞の存在が認められた。SELDI/TOF-MS を用いたプロテインチップ解析においては、慢性肝炎/肝硬変の ELISPOT 陽性、陰性患者、肝細胞がん患者、それぞれ 6 症例ずつ計 18 症例の検体を用いて、ペプチド特異的 CTL 陰性群より陽性群にて有意に高発現しているピークを検索し、HCC 患者での発現量と比較した。GPC3 ペプチド特異的 CTL が陽性と陰性の患者血漿を比較して陽性患者血漿にて有意に高発現であった分子について、肝細胞がん患者血漿と比較検討したところ、肝細胞がん患者血漿での発現レベルに近いピークを 1 種類見つけた。

3) 肝細胞がん局所療法に付随する抗腫瘍免疫効果の検討

木下平、古瀬純司、中面哲也：治療歴のない HLA-A24 あるいは A2 陽性の肝細胞癌患者 27 人 (RFA9 例、肝切除術 9 例、動脈塞栓術 9 例) を対象に、IFN- γ Elispot assay を行い、それぞれの治療前と治療後 1 ヶ月における末梢血単核球 (PBMC) 中の GPC3 特異的 CTL の推移を検討した。RFA9 例、肝切除術 9 例、動脈塞栓術 9 例において、治療前の肝細胞がん患者の約半数で PBMC 中に GPC3 特異的 CTL が存在した。さらに、治療後に特異的 CTL の増加を認めた症例は、

RFA6 例、肝切除術 1 例、動脈塞栓術 4 例であった。また、RFA 治療後 13 カ月後に、肝臓の再発部位を切除した症例について、免疫組織染色による CD8+ あるいは CD4+T 細胞の検出を行ったところ、腫瘍内部ならびに周囲に多くの CD8+T 細胞の浸潤が認められた。

4) ヒト肝細胞がんにおける Glypican-3(GPC3)免疫染色の有用性に関する研究

木下平、中面哲也：免疫組織化学的な検討を行い、HCC と ICC の鑑別に GPC3 の免疫染色が極めて有用であることを示した。GPC3 染色性と予後の検討では、GPC3 染色陽性群 (n=87) と GPC3 染色陰性群 (n=20) を比較すると、単変量解析にて有意差をもって影響を及ぼす因子は、全生存期間について HBsAg 陽性、HCV 陽性、ICG R15 値、術前 PIVKA-II 値、肝切除 \geq Segmentectomy、再発例、腫瘍個数多発、病理学的胆管侵襲あり、肝内転移あり、切除断端陽性と、GPC3 染色陽性であった。GPC3 陽性群と陰性群の 5 年生存率は 54.5% と 87.7% であり、HCC 癌部での GPC3 発現と生存期間との関連が示唆された。これらの因子について多変量解析を行うと、GPC3 染色陽性、腫瘍個数多発、肝内転移ありが有意な因子であり、GPC3 を発現しない HCC では、発現するものに比べ、有意に予後が良好であった。また、今回 GPC3 染色を施行した全 HCC153 例中、非癌部のごく狭い領域に染色陽性を認める症例を 15 例認めた。

5) がん免疫療法への応用を目指したヒト ES 細胞からの樹状細胞の作製に関する研究

千住覚、西村泰治：京都大学再生医学研究所において樹立されたヒト ES 細胞株を使用した。ヒト ES 細胞の血球細胞系への分化誘導には、これまでのマウスおよびカニクイザルの ES 細胞を用いた研究成果に準じて、フィーダー細胞共培養法を採用した。フィーダー細胞として、マウス由来ストローマ細胞である、OP9 を使用した。樹状細胞への分化および樹状細胞の成熟を促す因子として、ヒト GM-CSF、M-CSF、IL-4、Flt-3L などのサイトカイン、および LPS の効果を検討した。樹状細胞への分化の確認は、細胞の形態ならびにフローサイトメトリーによる細胞表面分子の解析により行った。

ヒト ES-DC の T 細胞への抗原提示機能については、アロ一次混合リンパ球反応 (MLR) の誘導の有無について検討した。さらに、ヒト ES-DC による抗原のプロセッシングと抗原提示機能を検討した。ヒト ES 細胞から ES-DC を分化誘導できることを見出した。樹状細胞としての形態、細胞表面分子 (CD80、CD86、CD40、HLA-DR)、IL-12 などのサイトカイン産生能、アロ T 細胞への一次 MLR 刺激活性、および CD4+T 細胞クローンへの蛋白質ならびにペプチド抗原の提示機能を有する ES-DC を分化誘導できた。

6) 肝癌細胞における細胞死抵抗性の分子基盤の解明

佐々木裕：まず 2 種類のヒト肝癌細胞株 (HepG2 細胞、Huh7 細胞) と 1 種類のヒト肝細胞株 (Hc 細胞) を対象に、酸化ストレスとしての過酸化水素刺激を加え、細胞数の変化を WST assay にて、アポトーシス (細胞死) の誘導を FACS にて解析した。次にエピジェネティックな変化を確認するために、脱メチル化剤による遺伝子発現の変化を網羅的に解析した。さらに酸化ストレスと細胞死を結びつける細胞内応答を遺伝子解析と蛋白質機能解析により検討した。HepG2 細胞、Hc 細胞、Huh7 細胞の順に酸化ストレスに対する細胞死抵抗性が認められた。最も抵抗性を呈する HepG2 細胞では、脱メチル化剤により多くの細胞死関連遺伝子の発現が亢進し、逆に GPC3 の発現は低下していた。このようにエピジェネティックな影響が細胞死関連遺伝子や GPC3 の発現制御に関与している可能性が示された。

[倫理面への配慮]

臨床試験および様々な臨床検体を用いた研究を開始するにあたって、国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。東京労災病院の臨床検体を用いた研究を開始するにあたっては、東京労災病院及び国立がんセンター倫理審査委員会の承認を得た。ES 細胞を用いた研究を開始するにあたっては、熊本大学倫理委員会および文部科学省ヒト ES 細胞倫理委員会から、ヒト ES 細胞使用研究の承認を得た。さらに、ヒト ES 細胞使用研究の遂行にあたっては、文部科学省のヒト ES 細胞指針および熊本大学の倫理規定を遵守しつつ、熊本大学倫理委員会ヒト ES 細胞分科会の監視のもとに、承認された使用計画書に沿って研究を行なった。これらの臨床試験および研究に係るすべての研究者はヘルシンキ宣言に従って本試験を実施し、個人情報保護にも最大限留意している。マウスを用いた実験においては、当該施設の動物実験倫理委員会規定に従って行われた。

D. 考察

1) 進行肝細胞がん患者を対象とした Glypican-3 を標的とするペプチドワクチンの臨床第 I 相試験

第 I 相試験の登録は終了し、レベル 3 の最大投与量 3.0mg のあと 2 例が現在進行中で、計 20 例で完了する。第 II 相では、再発率が高い肝細胞がんの根治的治療後の再発予防効果を評価する臨床試験と、肝硬変患者の肝細胞がん発症予防効果をみる臨床試験も計画している。マウスでの研究結果ではワクチンの効果は投与量に依存していたが、今回の臨床試験でも投与量 3.0mg で見られている臨床効果か

ら、ワクチン効果の投与量依存性が示唆され、進行肝細胞がん患者に対してさらに投与量や投与回数を増やす臨床試験も計画中である。

2) 慢性肝炎・肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性 T 細胞の出現頻度の検討に関する研究

慢性肝炎・肝硬変患者の少なくとも一部においては、既に GPC3 発現細胞が存在している、免疫系がそれに反応していると考えられた。GPC3 ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞の検出あるいは血漿のプロテインチップ解析により、肝細胞がんの超早期診断が出来る可能性が示唆された。今後、患者数を増やして検討すると共に、陽性患者においては再現性を検討し、明らかに陽性であれば肝細胞がんの発症の有無を、厳重に経過観察していく。

3) 肝細胞がん局所療法に付随する抗腫瘍免疫効果の検討

治療後に特異的 CTL の増加を認めた症例は、RFA が 9 例中 6 例で最も多く、動脈塞栓術が 4 例であったが、肝切除術はわずか 1 例であった。RFA 治療や動脈塞栓術により腫瘍部位を壊死に陥らせることによって、GPC3 を含めた腫瘍由来の様々ながん抗原に対する特異的免疫応答を誘導できる可能性があると考えられた。さらに、これら局所治療にペプチドワクチンなどの免疫療法を併用することによって、がん抗原特異的な CTL をより多く誘導できるかどうかマウスを用いて現在検討中である。

4) ヒト肝細胞がんにおける Glypican-3 (GPC3) 免疫染色の有用性に関する研究

GPC3 を発現する HCC と発現しないものの網羅的遺伝子及び蛋白の発現解析を進めている。GPC3 の前癌病変での発現の報告もあるが、非癌部の GPC3 染色陽性を示した領域に注目し、同部位での遺伝子発現について解析を進めている。今後 HCC における GPC3 発現の意義についてさらなる検討が必要である。

5) がん免疫療法への応用を目指したヒト ES 細胞からの樹状細胞の作製に関する研究

ES 細胞は適切な培養条件下では無限に増殖させることが可能であり、樹状細胞を体外で作製するためのソースとして ES 細胞を用いることにより、アフレーシス操作による単球分離を必要とせず、細胞ワクチン用の樹状細胞の大量生産が可能である。また、養子免疫療法のための腫瘍抗原特異的 T 細胞を刺激するための抗原提示細胞としても有用であると考えられる。今後の実用化への課題として、技術的にはアロ反応の問題の解決と、GMP 対応の培養技術の開発が求められる。また、ES 細胞由来の分化細胞のヒトへの投与について、倫理的な観点からの

議論を行う必要があると考えられる。また、ES 細胞の技術を iPS 細胞にも応用する。

E. 結論

平成 17 年度より 3 年間の研究計画として発足した本研究において、2 年目となる平成 18 年 2 月より、GPC3 を標的とした肝細胞癌の免疫療法に関する臨床第 I 相試験をスタートさせた。最終年度の平成 19 年度は、集大成としての臨床第 I 相試験を円滑に遂行するとともに、GPC3 遺伝子を導入したヒト ES-DC を用いた癌の細胞ワクチン開発に関わる基礎研究や GPC3 の診断への応用などについてさらに研究を進め、次年度以降の第 II 相、第 III 相試験への足がかりとすることを目標とし、以下の成果を得た。

- 1) GPC3 を標的とするペプチドワクチンの安全性と免疫学的有効性が証明でき、劇的ではないが臨床的効果も見出すことができた。
- 2) 肝細胞がん患者だけでなく、慢性肝炎・肝硬変患者の約 20% は、末梢血中に GPC3 ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞や肝細胞がん特異的マーカー蛋白が検出されることが示唆された。
- 3) RFA 治療後に肝細胞がん特異抗原 GPC3 ペプチド特異的 CTL の増加が観察された。
- 4) HCC に対する GPC3 免疫染色は、鑑別診断および予後予測に有用であることが示された。
- 5) 抗原提示機能を有するヒト ES-DC の分化誘導技術の開発に成功した。

以上より、3 年間の研究において所期の目標を十分に満たす成果が得られた。

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

[19 年度]

- 1) Motomura, Y., Ikuta, Y., Kuronuma, T., Komori, H., Ito, M., Tsuchihara, M., Tsunoda, Y., Shirakawa, H., Baba, H., Nishimura, Y., Kinoshita, T., Nakatsura, T. HLA-A2 and -A24- restricted Glypican-3-derived peptide vaccine can induce Specific CTLs in preclinical study using mice. *Int. J. Oncol.* in press
- 2) Kobayashi, A., Takahashi, S., Ishii, H., Konishi, M., Nakagohri, T., Gotohda, N., Satake, M., Furuse, J., Kinoshita, T. Factors predicting survival in advanced T-staged hepatocellular carcinoma patients treated with reduction hepatectomy followed by transcatheter arterial chemoembolization. *Eur. J. Surg. Oncol.* 33: 1019-1024, 2007.

- 3) Furuse, J., Ishii, H., Nakachi, K., Suzuki, E., Shimizu S., Nakajima, K. Phase I study of sorafenib in japanese patients with hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci.* 99: 159-165, 2008.
 - 4) Zytoon, AA., Ishii, H., Murakami, K., El-Kholy, MR., Furuse, J., El-Dorry, A., El-Malah, A. Recurrence-free survival after radiofrequency ablation of hepatocellular carcinoma. A registry report of the impact of risk factors on outcome. *Jpn. J. Clin. Oncol.* 37: 658-672, 2007.
 - 5) Senju, S., Suemori, H., Zembutsu, H., Uemura, Y., Hirata, S., Fukuma, D., Matsuyoshi, H., Shimomura, M., Haruta, M., Fukushima, S., Matsunaga, Y., Katagiri, T., Nakamura, Y., Furuya, M., Nakatsuji, N., Nishimura, Y. Genetically manipulated human embryonic stem cell-derived dendritic cells with immune regulatory function. *Stem Cells* 25: 2720-2729, 2007.
 - 6) Tsakamoto, H., Irie, A., Senju, S., Hatzopoulos, A.K., Wojnowski, L., Nishimura, Y. B-Raf-mediated signaling pathway regulates T cell development. *Eur. J. Immunol.* in press
 - 7) Yokomine, K., Nakatsura, T., Senju, S., Nakagata, N., Minohara, M., Kira, J., Motomura, Y., Kubo, T., Sasaki, Y., Nishimura, Y. Regression of intestinal adenomas by vaccination with heat shock protein 105-pulsed bone marrow-derived dendritic cells in ApcMin/+ mice. *Cancer Sci.* 98: 1930-1935, 2007.
 - 8) Iwashita, H., Fujii, S., Kawamura, Y., Okamoto, T., Sawa, T., Masaki, T., Nishizono, A., Higashi, S., Kitamura, T., Tamura, F., Sasaki, Y., Akaike, T. Identification of the major antigenic protein of helicobacter cinaedi and the immunogenicity during infections in humans. *Clin. Vaccine Immunol.* in press.
 - 9) 中面哲也 Glypican-3(GPC3) ペプチドワクチンによる肝細胞癌の予防・治療法 *G. I. Research* 16(1): 17-23、2008年
 - 10) 中面哲也 癌免疫療法 腫瘍内科 1(5): 449-453、2007年
 - 11) 小森宏之, 中面哲也, 本村裕, 別府透, 石河隆敏, 馬場秀夫, 西村泰治 新規癌胎児性抗原Glypican-3を標的とした肝細胞癌の免疫療法 分子細胞治療 6(2): 57-61、2007年
 - 12) 古瀬純司 進行肝細胞癌の化学療法-Sorafenib plasebo-control randomized study (SHARP trial) を中心に 腫瘍内科 1: 471-475、2007年
 - 13) 田中基彦, 永濱裕康, 佐々木 裕 臨床講義ウィルス性肝疾患 臨床と研究 84:87-96、2007年
 - 14) 佐々木裕 特集 C型肝炎の治療 新たな展開 瀉血療法 モダンフィジシャン 28: 72-75、2008年
 - 15) 佐々木裕 「新しい診断と治療のABC」肝癌 消化器7 坪内博仁編、発癌機序 pp33-42、最新医学社、東京、2007年
- [18年度]
- 1) Gotohda, N., Iwasaki, H., Ozeki, M., Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Yagi, T., Kinoshita, T., et al. The Role of a Protease Inhibitor against Hepatectomy. *Hepato-gastroenterol.* 53: 115-119, 2006.
 - 2) Gotohda, N., Kinoshita, T., Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Furuse, J., et al. New Indication for Reduction Surgery in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma with Major Vascular Involvement. *World J. Surg.* 30(3): 431-438, 2006.
 - 3) Gotohda, N., Ishii, H., Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Furuse, J., Yoshino, M., and Kinoshita, T. Selection Criteria for Reduction Hepatectomy in Multiple Advanced Hepatocellular Cartinoma. *Anticancer Res.* 26: 4671-4674, 2006.
 - 4) Ueno, H., Sato, T., Yamamoto, S., Tanaka, K., Ohkawa, S., Takagi, H., Yokosuka, O., Furuse, J., Saito, H., Sawaki, A., Kasugai, H., Osaki, Y., Fujiyama, S., Sato, K., Wakabayashi, K., Okusaka, T. Randomized, double-blind, placebo-controlled trial of bovine lactoferrin in patients with chronic hepatitis C. *Cancer Sci.* 97(10): 1105-10, 2006.
 - 5) Komori, H., Nakatsura, T., Senju, S., Ikuta, Y., Yokomine, K., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Beppu, T., Matsui, M., Torigoe, T., Sato, N., Baba, H., and Nishimura, Y. Identification of HLA-A2- or HLA-A24- restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 12: 2689-2697, 2006.
 - 6) Motomura, Y., Senju, S., Nakatsura, T., Matsuyoshi, H., Hirata, S., Monji, M., Komori, H., Fukuma, D., Baba, H., Nishimura, Y. Embryonic stem cell-derived dendritic cells expressing Glypican-3, a recently identified oncofetal antigen, induce protective immunity against highly metastatic mouse melanoma, B16-F10. *Cancer Res.* 66: 2414-2422, 2006.
 - 7) Hosaka, S., Nakatsura, T., Tsakamoto, H., Hatayama, T., Baba, H., and Nishimura, Y. Synthetic small interfering RNA targeting heat shock protein 105 induces the apoptosis of various cancer cells both *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Sci.* 97: 623-632, 2006.
 - 8) Yokomine, K., Nakatsura, T., Monohara, M., Kira, J-I., Kubo, T., Sasaki, Y., Nishimura, Y. Immunization with heat shock protein 105-pulsed

- dendritic cells leads to tumor rejection in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 343: 269-278, 2006.
- 9) Goto, H., Oda, Y., Murakami, Y., Tanaka, T., Hasuda, K., Goto, S., Sasaki, Y., Sakisaka, S., Hattori, M. Proportion of de novo cancers among colorectal cancers in Japan. *Gastroenterology.* 131:40-46, 2006.
 - 10) Sasaki, Y. Does oxidative stress participate in the development of hepatocellular carcinoma? *J Gastroenterol.* 41: 1135-1148, 2006.
 - 11) 後藤田直人、小西 大、中郡聡夫、高橋進一郎、木下 平 バリアンス解析からみた肝切除クリニカルパスの適応 日本消化器外科学会雑誌 39 (1) : 9-15 2006年
 - 12) 中郡聡夫、木下 平、小西 大、高橋進一郎、後藤田直人 膵癌・胆道癌の診断と治療 肝内胆管癌の手術 日本臨牀 64 (1) : 469-475 2006年
 - 13) 古瀬純司、鈴木英一郎、仲地耕平、清水 怜、石井 浩、吉野正曠 肝内胆管癌の化学療法(動注を含む) 肝胆膵 53 (5) : 1001-1007 2006年
 - 14) 小森宏之、中面哲也、別府 透、西村泰治、馬場秀夫 Glypican-3(GPC3)を標的とした免疫療法の有用性の検討 癌と化学療法 33(12) : 1742-1744 癌と化学療法社(東京) 2006年
 - 15) 影下登志郎、福島聡、尹浩信、西村泰治、中面哲也 悪性黒色腫の新しい血清マーカー glypican-3 と SPARC 臨床皮膚科 60(5)増刊号: 169-172 医学書院(東京) 2006年
 - 16) 小森宏之、中面哲也、本村 裕、別府 透、石河隆敏、馬場秀夫、西村泰治 新規がん胎児性抗原 Glypican-3 を標的とした肝細胞がんの免疫療法分子細胞治療 6(2) : 57-61 先端医学社(東京) 2007年
 - 17) 小森宏之、中面哲也、本村 裕、別府 透、西村泰治、馬場秀夫 新規癌胎児性抗原 Glypican-3 を標的とした癌ワクチン療法 Biotherapy 21(1) : 62-68 癌と科学療法社(東京) 2007年
 - 18) 長岡克弥、佐々木 裕 特集 肝癌の診療 -最新の進歩- 肝細胞癌における遺伝子異常 臨床消化器内科 増刊号 21 : 73-81 2006年
 - 19) 佐々木 裕 「別冊 医学のあゆみ 酸化ストレス -フリーラジカル医学生物学の最前線 -」 吉川敏一 編、消化器疾患 NASHと酸化ストレス(分担) pp294-298 医歯薬出版(東京) 2006年
 - 20) 佐々木 裕 「別冊 医学のあゆみ 消化器疾患 Ver.3 - state of arts II. 肝・胆・膵 -」 竹井謙之、川崎誠治 編、肝障害とその機序 酸化ストレスと肝疾患(分担) pp76-80 医歯薬出版(東京) 2006年
- [17年度]
- 1) Kawashima, M., Furuse, J., Nishio, T., Konishi, M., Ishii, H., Kinoshita, T., Nagase, M., Nihei, K., Ogino, T. Phase II Study of Radiotherapy Employing Proton Beam for Hepatocellular Carcinoma. *J. Clin. Oncol.* 23: 1839-1846, 2005.
 - 2) Kobayashi, A., Takahashi, S., Hasebe, T., Konishi, M., Nakagohri, T., Gotohda, N. and Kinoshita, T. Solitary bile duct hamartoma of the liver. *Scand. J. Gastroentero.* 40: 1378-1381, 2005.
 - 3) Furuse, J., Ishii, H., Nagase, M., Kawashima, M., Ogino, T., Yoshino, M. Adverse hepatic events caused by radiotherapy for advanced hepatocellular carcinoma. *J. Gastroen. Hepatol.* 20: 1512-1518, 2005.
 - 4) Ikuta, Y., Nakatsura, T., Kageshita, T., Fukushima, S., Ito, S., Wakamatsu, K., Baba, H., and Nishimura, Y. Highly sensitive diagnosis of melanoma at an early stage by detecting the serum SPARC and glypican-3 levels. *Clin. Cancer Res.* 11: 8079-8088, 2005.
 - 5) Fukuma, D., Matsuyoshi, H., Hirata, S., Kurisaki, A., Yoshitake, Y., Sinohara, M., Nishimura, Y., and Senju, S. Anti-cancer immunotherapy with semi-allogeneic embryonic stem cell-derived dendritic cells genetically engineered to express a model tumor antigen. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 335: 5-13, 2005.
 - 6) Matsuyoshi, H., Hirata, S., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Fukuma, D., Kurisaki, A., Nakatsura, T., Nishimura, Y., and Senju, S. Therapeutic effect of α -galactosylceramide-loaded dendritic cells genetically engineered to express SLC/CCL21 along with tumor antigen against peritoneally disseminated tumor cells. *Cancer Sci.* 96: 889-896, 2005.
 - 7) Miyazaki, M.*, Nakatsura, T.*, Senju, S., Monji, M., Hosaka, S., Komori, H., Yoshitake, Y., Motomura, Y., Yokomine, K., Minohara, M., Kubo, T., Ishihara, K., Hatayama, T., Ogawa, M., and Nishimura, Y. (*equal contribution) DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4+ and CD8+ T cells. *Cancer Sci.* 96: 695-705, 2005.
 - 8) Guo, Y., Niiya, H., Azuma, T., Uchida, N., Yakushijin Y., Sakai, I., Hato, T., Takahashi, M., Senju, S., Nishimura, Y. and Yasukawa M. Direct recognition and lysis of leukemia cells by WT1-specific CD4+ T lymphocytes in an HLA class II-restricted manner. *Blood.* 106: 1415-1418, 2005.
 - 9) Nakatsura, T., and Nishimura, Y. [Review] Usefulness of a novel oncofetal antigen Glypican-3

for diagnosis of hepatocellular carcinoma and melanoma. *BioDrugs*. 19: 71-77, 2005.

- 10) 光永修一、小西 大、長谷部孝裕、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人、木下 平 術前診断に苦慮した肝血管筋脂肪腫の2切除例 医学書院 7: 693-699、2005年
- 11) 古瀬純司、石井 浩、仲地耕平、鈴木英一郎、吉野正曠 臨床腫瘍学の現状と展望、がん薬物療法の実際、肝胆膵癌、Progress in medicine 25: 2087-2093、2005年
- 12) 石井 浩、古瀬純司、仲地耕平、鈴木英一郎 高度進行肝細胞癌に対するシスプラチン動注化学療法：重篤な有害事象は稀でない 肝臓 46: 228-229、2005年
- 13) 平田真哉、千住 覚、西村泰治 樹状細胞の移入による免疫抑制療法 臨床免疫 43(5): 603-607、2005年
- 14) 平田真哉、千住 覚、西村泰治 抗原提示細胞をターゲットとした免疫抑制療法 分子リウマチ 2(1): 47-54、2005年
- 15) 吉武義泰、中面哲也、西村泰治 癌免疫療法研究の新展開 臨床免疫学(上) 63(4): 46-55、2005.
- 16) 佐々木 裕 特集 肝と酸化ストレス 酸化ストレスとシグナル伝達 臨床消化器内科 20: 431-438、2005年

2. 学会発表

[19年度]

- 1) 進行肝細胞がん患者を対象とした Glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチンの臨床第I相試験、中面哲也、古瀬純司、本村裕、吉川聡明、黒沼俊光、西村美子、林恵美子、白川博文、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人、石井浩、仲地耕平、角田祥之、伊藤雅昭、小森宏之、千住覚、西村泰治、木下平 第11回基盤的癌免疫研究会総会(東京)、2007年7月11、12日
- 2) Phase I study of Glypican-3(GPC3) peptide vaccine in patients with advanced HCC, 中面哲也、古瀬純司、本村裕、吉川聡明、黒沼俊光、西村美子、林恵美子、白川博文、角田祥之、伊藤雅昭、小森宏之、西村泰治、木下平 第66回日本癌学会学術総会(横浜)、2007年10月3~5日
- 3) 肝細胞がんを高発現する Glypican-3由来ペプチドを用いたペプチドワクチンに関する前臨床試験、本村裕、中面哲也、古瀬純司、生田義明、黒沼俊光、小森宏之、伊藤雅昭、馬場秀夫、木下平、江角浩安 第18回日本消化器癌発生学会総会(札幌)、2007年11月8、9日
- 4) 肝細胞がん特異抗原 Glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチンの臨床試験、中面哲也、古瀬純司、本村裕、木下平、江角浩安 第18回日本消化器癌発生学会総会(札幌)、2007年11月8、9日
- 5) 慢性肝炎・肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性 T 細胞の出現頻度の検討、林恵美子、本村裕、角田祥之、白川博文、大場信之、西中川秀太、水口泰宏、児島辰也、野村和弘、中面哲也 第11回基盤的癌免疫研究会総会(東京)、2007年7月11、12日
- 6) 慢性肝炎・肝硬変患者末梢血中における Glypican-3 特異的細胞傷害性 T 細胞の検出による肝細胞がんの超早期診断の可能性の検討、林恵美子、本村裕、角田祥之、白川博文、吉川聡明、児島辰也、水口泰宏、西中川秀太、大場信之、野村和弘、中面哲也 第27回日本分子腫瘍マーカー研究会(東京)、2007年10月2日
- 7) Detection of Glypican-3-specific CTLs in Chronic Hepatitis/Cirrhosis and Hepatocellular Carcinoma Patients 林恵美子、本村裕、角田祥之、白川博文、大場信之、西中川秀太、水口泰宏、児島辰也、野村和弘、中面哲也 第66回日本癌学会学術総会(横浜)、2007年10月3~5日
- 8) Analysis of GPC3-specific immune response induced by Radiofrequency Thermal Ablation, 本村裕、角田祥之、白川博文、黒沼俊光、古瀬純司、木下平、西村泰治、馬場秀夫、中面哲也 第66回日本癌学会学術総会(横浜)、2007年10月3~5日
- 9) 免疫染色を使用した HCC, CCC, Combined における GPC3 の発現検討—HCC に対する GPC3 ペプチドワクチン臨床第I相における基礎検討、黒沼俊光、西村美子、本村裕、白川博文、木下平、中野雅行、長谷部孝裕、中面哲也 第11回基盤的癌免疫研究会総会(東京)、2007年7月11、12日
- 10) GPC3 免疫染色を用いた肝細胞癌と胆管細胞癌の鑑別診断の有用性の検討、西村美子、黒沼俊光、白川博文、長谷部孝裕、太田隆文、中面哲也 第27回日本分子腫瘍マーカー研究会(東京)、2007年10月2日
- 11) 肝細胞癌近接の非癌部領域における Glypican-3 発現の検討、黒沼俊光、西村美子、白川博文、木下平、中野雅行、中面哲也 第27回日本分子腫瘍マーカー研究会(東京)、2007年10月2日
- 12) Investigation of Glypican-3(GPC3) positive micro lesion in non-tumor area adjacent to HCC, 黒沼俊光、西村美子、長谷部孝裕、白川博文、木下平、中野雅行、中面哲也 第66回日本癌学会学術総会(横浜)、2007年10月3~5
- 13) Immunohistochemical staining of Glypican-3 in the differential diagnosis of HCC and CCC, 白川博文、黒沼俊光、西村美子、長谷部孝裕、後藤田直人、高橋進一郎、中郡聡夫、小西大、木下平、

- 中面哲也 第 66 回日本癌学会学術総会 (横浜)、2007 年 10 月 3~5 日
- 14) 高橋進一郎、木下平、小西大、中郡聡夫、後藤田直人、石井浩、仲地耕平、古瀬純司 肝細胞がん切除後 10 年無再発生存例の検討 2007 年 6 月 21-22 日 東京
 - 15) 石井浩、古瀬純司、木下平、林孝行、仲地耕平、鈴木英一郎、清水怜、吉野正曠、小西大、佐竹光夫 肝細胞癌に対する血管塞栓化学療法の奏効予知因子 2007 年 6 月 21-22 日 東京
 - 16) 池田公史、奥坂拓志、竹内義人、古瀬純司、石井浩、佐竹光夫、佐藤洋造、稲葉吉隆、荒井保明 進行肝細胞癌に対する FMP 動注療法の第 I 相臨床試験 第 5 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2007 年 3 月 23-24 日 札幌市
 - 17) Furuse J, Ishii H, Nakajima K, Nakachi K, Suzuki E, Shimizu S, Yoshino M. Phase I Study of Sorafenib in Japanese Patients with Hepatocellular Carcinoma. 17th APASL Conference “Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma in Asia”. March 27-30, 2007. Kyoto.
 - 18) Ueno H, Sato T, Yamamoto S, Tanaka K, Ohkawa S, Takagi H, Yokosuka O, Furuse J, Saito H, Sawaki A, Kasugai H, Osaki Y, Fujiyama S, Sato K, Wakabayashi K, Okusa T. Randomized, Double-blind, Placebo-controlled Trial of oral Lactoferrin for Chronic Hepatitis C. 17th APASL Conference “Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma in Asia”. March 27-30, 2007. Kyoto.
 - 19) 仲地耕平、古瀬純司、石井浩、鈴木英一郎、清水怜、吉野正曠 進行肝細胞癌に対するシスプラチン肝動注化学療法の奏効予知因子 2007 年 6 月 21-22 日 東京
 - 20) Furuse J, Okusaka T, Ishii H, Nakachi K, Suzuki E, Shimizu S, Ueno H, Ikeda M, Morizane C, Ogura T. Phase I/II study of S-1 in patients (pts) with advanced hepatocellular carcinoma (HCC) : results of phase I part correlation between pharmacokinetics (PK) and hepatic dysfunction. ECCO14 (the European Cancer Conference). September 23-27, 2007. Barcelona.
 - 21) Furuse J, Ishii H, Nakachi K, Suzuki E, Yoshino M, Nakajima K. Phase I study of sorafenib in Japanese patients with hepatocellular carcinoma. ILCA (International Liver Cancer Association). 5-7 October, 2007. Barcelona.
 - 22) Ikeda M, Furuse J, Okusaka T, Ueno H, Ishii H, Nakachi K, Morizane C, Suzuki E, Shimizu S. Phase I and pharmacokinetic study of S-1 for advanced hepatocellular carcinoma : impact of liver disorder. ILCA (International Liver Cancer Association). 5-7 October, 2007. Barcelona.
 - 23) 古瀬純司、仲地耕平、鈴木英一郎、清水怜 進行肝細胞癌に対する全身化学療法 - 分子標的治療を中心に 第 4 5 回日本癌治療学会総会 2007 年 10 月 24-26 日 京都市
 - 24) 奥坂拓志、古瀬純司、上野秀樹、石井浩、池田公史、仲地耕平、森実千種、鈴木英一郎、清水怜 肝細胞患者における S-1 臨床第 I / II 相試験 - 臨床第 I 相試験の成績報告 - 第 4 5 回日本癌治療学会総会 2007 年 10 月 24-26 日 京都市
 - 25) Nakachi K, Furuse J, Ishii H, Suzuki E, Shimizu S, Yoshino M. Predictive Factor For Response to Arterial Infusion With Cisplatin For Hepatocellular Carcinoma. 17th APASL Conference “Viral Hepatitis and Hepatocellular Carcinoma in Asia”. March 27-30, 2007. Kyoto.
 - 26) Ishii H, Furuse J, Nakachi K, Suzuki E, Shimizu S, Yoshino M, Satake M, Hayashi T. Predictive factors of transcatheter arterial chemoembolization for hepatocellular carcinoma. 43st Annual Meeting of the American Society of Clinical Oncology. June 1-5, 2007. Chicago.
 - 27) Furuse J, Nakachi K, Ishii H, Suzuki E, Shimizu S, Gotohda N, Konishi M, Nakagohri T, Takahashi S, Hayashi T, Satake M, Kinoshita T. Time-to-progression as a parameter for evaluating the therapeutic effects of transcatheter arterial chemoembolization in patients with advanced hepatocellular carcinoma. ILCA (International Liver Cancer Association). October 5-7, 2007. Barcelona.
 - 28) Suzuki E, Furuse J, Ishii H, Kinoshita T, Gotohda N, Nakachi K, Shimizu S, Yoshino M. Recurrence and outcomes after local therapy for the treatment of small hepatocellular carcinoma : experience at single center. ILCA (International Liver Cancer Association). October 5-7, 2007. Barcelona.
 - 29) Nishimura Y, Komori H, Motomura Y, Senju S, Beppu T, Baba H, Nakatsura T. A novel oncofetal antigen Glypican-3 useful for diagnosis and immunotherapy of hepatocellular carcinoma. 13th International Congress of Immunology, August 21-25, 2007, Rio de Janeiro (Brazil)
 - 30) Senju S, Suemori H, Uemura Y, Hirata S, Fukuma D, Matsuyoshi H, Haruta M, Fukushima S, Matsunaga Y, Nakatsuji N, Nishimura Y. Genetic engineering of human embryonic stem cell-derived dendritic cells. 13th International Congress of Immunology, August 21-25, 2007, Rio de Janeiro (Brazil)
 - 31) 星田陽明、田中基彦、永濱裕康、佐々木裕 肝細胞における酸化ストレスによる遺伝子発現変化の網羅的解析 第 43 回日本肝臓学会総会ワー

クシヨップ 2007年6月1日 東京

- 32) 永濱裕康、星田陽明、佐々木裕 酸化ストレスによる肝細胞の細胞応答を担う分子基盤の解明 第49回日本消化器病学会大会 2007年10月18日神戸

[18年度]

- 1) 黒沼俊光、生田義明、本村 裕、下村真菜美、芦原淳子、土原昌巳、伊藤雅昭、西村泰治、中面哲也 肝細胞がんに対する Glypican-3 由来ペプチドワクチンを用いた臨床試験のプロトコール作成のために行った基礎研究—その1 第10回基盤的癌免疫研究会総会(札幌) 2006年7月13日、14日
- 2) 本村 裕、生田義明、小森宏之、下村真菜美、芦原淳子、黒沼俊光、土原昌巳、伊藤雅昭、西村泰治、中面哲也 肝細胞がんに対する Glypican-3 由来ペプチドワクチンを用いた臨床試験のプロトコール作成のために行った基礎研究—その2 第10回基盤的癌免疫研究会総会(札幌) 2006年7月13日、14日
- 3) 中面哲也、本村 裕、下村真菜美、芦原淳子、黒沼俊光、土原昌巳、伊藤雅昭 ペプチド特異的CTLの検出におけるペンタマーの有用性及びCrを用いない顕微蛍光法による細胞傷害試験の有用性の検討 第10回基盤的癌免疫研究会総会(札幌) 2006年7月13日、14日
- 4) 中面哲也 癌特異抗原の癌の診断と治療への応用を目指した基礎研究 第65回日本癌学会学術総会(横浜) 日本癌学会奨励賞受賞講演 2006年9月28~30日
- 5) 本村 裕、生田義明、小森宏之、下村真菜美、芦原淳子、黒沼俊光、土原昌巳、伊藤雅昭、馬場秀夫、西村泰治、江角浩安、中面哲也 肝細胞がんに対する Glypican-3 由来ペプチドワクチンを用いた臨床試験のプロトコール作成のためのマウスでの前臨床試験、第65回日本癌学会学術総会(横浜) 2006年9月28~30日
- 6) 下村真菜美、本村 裕、芦原淳子、黒沼俊光、土原昌巳、伊藤雅昭、江角浩安、中面哲也 Glypican-3 由来がん拒絶抗原ペプチド特異的CTLの検出におけるペンタマー及び顕微蛍光法による細胞傷害試験の有用性、第65回日本癌学会学術総会(横浜) 2006年9月28~30日
- 7) 後藤田直人、木下平、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎 進行肝細胞癌における減量切除の位置づけ 第61回日本消化器外科学会定期学術総会(横浜) 2006年7月13~15日
- 8) 高橋進一郎、小西大、中郡聡夫、後藤田直人、佐竹光夫、縄野 繁、石井 浩、古瀬純司、小林昭彦、木下平 (ワークショップ) 進行肝細胞がんに対する減量切除の適応 第44回日本癌治療学会総会(東京) 2006年10月18~20日
- 9) 後藤田直人、木下平、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎(パネルディスカッション) 再発肝細胞癌に対する再肝切除の治療成績と今後の適応 第68回日本臨床外科学会総会(広島) 2006年11月9~11日
- 10) 鈴木英一郎、古瀬純司、石井 浩、仲地耕平、吉野正曠 進行肝細胞癌に対する Uracil/Tegafur・Mitoxantrone 併用化学療法の特長試験 第4回日本臨床腫瘍学会総会(大阪) 2006年3月
- 11) 古瀬純司、石井 浩、中島圭子、仲地耕平、鈴木英一郎、吉野正曠 肝細胞癌患者を対象としたBAY43-9006の第I相臨床試験 第42回日本肝癌研究会(東京) 2006年7月
- 12) 河島光彦、古瀬純司、西尾禎治、小西大、石井 浩、木下平、荻野 尚 肝細胞癌に対する陽子線治療の第II相試験 第42回日本肝癌研究会(東京) 2006年7月
- 13) 石井 浩、古瀬純司、木下平、仲地耕平、鈴木英一郎、吉野正曠、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人 肝細胞癌・新規病期分類の提案 第42回日本肝癌研究会(東京) 2006年7月
- 14) 高橋進一郎、木下平、小西大、中郡聡夫、後藤田直人、古瀬純司、石井 浩 肝細胞癌リンパ節転移に対する外科的切除 第42回日本肝癌研究会(東京) 2006年7月
- 15) 鈴木英一郎、石井 浩、池田公史、古瀬純司、奥坂拓志、上野秀樹、森実千種、仲地耕平、吉野正曠 遠隔転移を有する肝細胞癌に対するTACE~全身化学療法との比較から~ 第42回日本肝癌研究会(東京) 2006年7月
- 16) 石井 浩、古瀬純司、木下平、小西大、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人、仲地耕平、鈴木英一郎、吉野正曠 Milan基準を満たすBCLCの病期Aの肝細胞癌に対する切除・ablation 第44回日本癌治療学会総会(東京) 2006年10月
- 17) 高橋進一郎、小西大、中郡聡夫、後藤田直人、佐竹光夫、縄野 繁、石井 浩、古瀬純司、小林昭彦、木下平 進行肝細胞がんに対する減量切除の適応 第44回日本癌治療学会総会(東京) 2006年10月
- 18) Furuse, J., Ishii, H., Nakachi, K., Suzuki, E., Yoshino, M. Phase I study of sorafenib in Japanese patients with hepatocellular carcinoma. 18th EORTC-NCI-AACR Symposium on Molecular Targets and Cancer Therapeutics. (Prague, Czech Republic) November 7-10, 2006.
- 19) Ishii, H., Furuse, J., Nakachi, K., Suzuki, E., Yoshino, M., Satake, M., Hayashi, T. Predictive factors of transcatheter arterial chemoembolization for

- hepatocellular carcinoma. The Joint meeting of The 3rd ISC International Conference on Cancer Therapeutics and the 11th International Symposium on Cancer Chemotherapy. (Tokyo) December 6-8, 2006.
- 20) 永濱裕康、葦原浩、佐々木 裕 酸化ストレスによりミトコンドリアを介して誘導される肝細胞死の新たな評価法 第 92 回日本消化器病学会総会 (シンポジウム 1) 「消化器疾患における酸化ストレスの関与と counterstrategy」(北九州) 2006 年 4 月 20 日
 - 21) 永濱裕康、星田陽明、佐々木 裕 酸化ストレスによる肝細胞障害の分子機構の解明どのように肝細胞死を修飾するか? 第 10 回日本肝臓学会大会 (ワークショップ 14) 「トランスクリプトーム・プロテオーム解析の肝疾患への応用」(札幌) 2006 年 10 月 12 日
 - 22) Senju, S., Suemori, H., Hirata, S., Matsuyoshi, H., Uemura, Y., Fukuma, D., Shimomura, M., Chen Yu-Zhen, Furuya, M., Nakatsuji, N., Nishimura, Y. Generation of immune-competent dendritic cells from human embryonic stem cells. 第 36 回日本免疫学会総会・学術総会 (大阪) 2006 年 12 月 11 日～13 日
 - 23) Nishimura, Y. Usefulness of a Novel Oncofetal Antigen Glypican-3 for Diagnosis and Immunotherapy of Cancers. The 3rd China-Japan Cooperative Life Science Symposium in Kumamoto (Kumamoto), Oct.24, 2006.
 - 24) 千住 覚, 栗崎朱里、平田真哉、福岡大喜、松吉秀武、下村真菜美、西村泰治 腫瘍抗原特異的ヘルパーT 細胞の活性化を目的としたインバリアント (Ii) 鎖融合抗原提示ベクターの開発 第 65 回日本癌学会学術総会 (横浜) 2006 年 9 月 28 日～30 日
 - 25) 西村泰治 消化器系癌の診断と治療に有用な新規腫瘍特異抗原 第 2 回熊本分子消化器病学会研究会 (熊本) 2006 年 6 月 9 日 (招待)
 - 26) 西村泰治、小森宏之、Chen Yu-Zhen、横峰和典、Gang Liu、中面哲也、松井政則、中瀧直己、千住 覚 遺伝子操作マウスを利用した T 細胞活性化ワクチンの開発 日本人類遺伝学会第 51 回大会 (シンポジウム 2) (米子) 2006 年 10 月 17 日～20 日
- [17 年度]**
- 1) Glypican-3, Identified by cDNA Microarray Analysis, is an Ideal Tumor Marker and Tumor Rejection Antigen of Human HCC and Melanoma.: Nakatsura, T., Komori, H., Kubo, T., Yoshitake, Y.,Senju, S., Katagiri, T., Furukawa, Y., Ogawa, M., Nakamura, Y., and Nishimura, Y. 2005 AACR Annual Meeting, April 15-21, 2005, (Anaheim CA, U.S.A.)
 - 2) Therapeutic control of immune responses by genetically modified ES cell-derived dendritic cells.: Senju, S., Hirata, S., Nishimura, Y. 4th International Workshop of Kyoto T Cell Conference, April 8-10, 2005, (Kyoto)
 - 3) Successful Vaccination by Genetically Modified ES Cell-Derived Dendritic Cells.: Kurisaki, A., Hirata, S., Matsuyoshi, H., Fukuma, D., Shimomura, M., Nishimura, Y. and Senju, S., International Symposium on The Cooperative Research Project on Clinical and Epidemiological Studies of Emerging and Re-emerging Infectious Diseases in Kumamoto University. September 15-16, 2005 (Aso)
 - 4) ES細胞由来の樹状細胞を用いた免疫応答制御技術の開発, 千住 覚, 第16回日本樹状細胞研究会, 平成17年7月14～15日 (福岡)
 - 5) 癌胎児性抗原Glypican-3を標的とした免疫療法による肝細胞癌の治療・予防モデルの確立: 中面哲也、小森宏之、吉武義泰、西村泰治 第8回基盤的癌免疫研究会総会、平成17年7月15、16日 (札幌)
 - 6) 新規腫瘍マーカーSPARCとGPC3の併用による早期メラノーマの血清診断、中面哲也、生田義明、小森宏之、福島 聡、影下登志郎、西村泰治 第25回日本分子腫瘍マーカー研究会、平成17年9月14～16日 (札幌)
 - 7) 癌胎児性抗原Glypican-3のHLA-A2拘束性CTLエピトープペプチドの同定 小森宏之、中面哲也、松井政則、西村泰治 第64回日本癌学会学術総会 平成17年9月14～16日 (札幌)
 - 8) 新規腫瘍マーカーSPARCとGPC3を利用した早期メラノーマの血清学的診断、生田義明、中面哲也、影下登志郎、西村泰治 第64回日本癌学会学術総会、平成17年9月14～16日 (札幌)
 - 9) メラノーマ新規腫瘍抗原の診断・治療への応用影下登志郎、中面哲也、千住 覚、西村泰治 第64回日本癌学会学術総会、平成17年9月14～16日 (札幌)
 - 10) Semi-allogenicなES細胞由来の樹状細胞を用いた抗原特異的抗腫瘍免疫療法の有効性の検討、福岡大喜、松吉秀武、平田真哉、栗崎朱里、吉武義泰、篠原正徳、西村泰治、千住 覚、第64回日本癌学会学術総会、平成17年9月14～16日 (札幌)
 - 11) HLA トランスジェニックマウスを用いた癌抗原特異的CTL誘導ペプチドの有効性と安全性の証明: 小森宏之、中面哲也、松井政徳、西村泰治 第14回日本組織適合性学会大会、平成 17年10月2～3日 (熊本)
 - 12) MHCを一部共有するアロES細胞由来の樹状細胞を用いた抗原特異的抗腫瘍免疫療法の開発福岡大喜、松吉秀武、平田真哉、栗崎朱里、吉武義泰、篠原正徳、西村泰治、千住 覚 第14回日本組織適合性学会大会、平成17年10月2～3日 (熊本)
 - 13) α-GalCerを負荷した抗原とケモカインを同時発

現するES-DCによる抗腫瘍免疫の誘導 千住 覚,
松吉秀武, 平田真哉, 吉武義泰, 本村裕, 福間大
喜, 栗崎朱里, 中面哲也, 西村泰治, 第35回日本
免疫学会総会・学術集会 (横浜), 平成17年12月1
3～15日

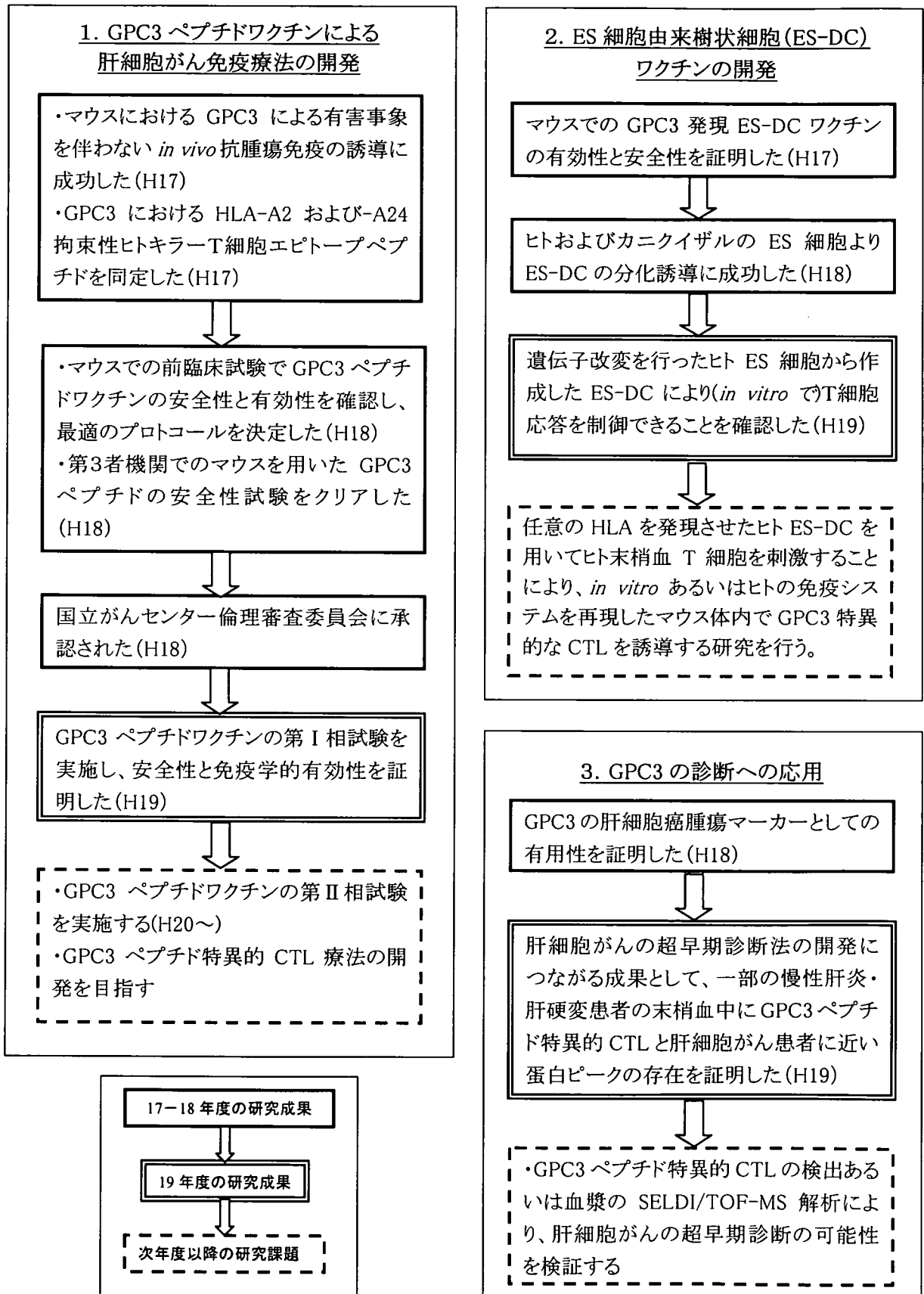
- 14) MHCを共有するアロES細胞由来の樹状細胞を用い
た抗原特異的抗腫瘍免疫療法の開発、福間大喜,
松吉秀武, 平田真哉, 栗崎朱里, 吉武義泰, 本村
裕, 篠原正徳, 西村泰治, 千住 覚, 第35回日
本免疫学会総会・学術集会 (横浜), 平成17年12
月13～15日
- 15) 葦原 浩、永濱裕康、佐々木 裕：酸化ストレスは
どのように肝細胞死を修飾するか？第41回日本肝
臓学会総会 ワークショップ「アポトーシス」 2
005年6月16日、大阪
- 16) 永濱裕康、片瀬香子、高岡 了、古澤千枝、田中
基彦、藤山重俊、佐々木 裕：Breakthrough
hepatitis に対する Adefovir dipivoxil の有効
性に関する検討。第 41 回日本肝臓学会総会 一
般演題、2005 年 6 月 16 日、大阪

H. 知的財産権の出願・登録状況

本年度研究によるものはない。

研究成果の概要図

新規癌胎児性抗原 (Glypican-3; GPC3) を利用した肝細胞癌の診断と治療



III. 研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
主任研究者 木下 平					
Kobayashi, A., Takahashi, S., Ishii, H., Konishi, M., Nakagohri, T., Gotohda, N., Satake, M., Furuse, J., <u>Kinoshita, T.</u>	Factors predicting survival in advanced T-staged hepatocellular carcinoma patients treated with reduction hepatectomy followed by transcatheter arterial chemoembolization.	Eur. J. Surg. Oncol.	33	1019-1024	2007
Takahashi, S., Nagai, K., Saito, N., Konishi, M., Nakagohri, T., Gotohda, N., Nishimura, M., Yoshida, J., and <u>Kinoshita, T.</u>	Multiple Resections for Hepatic and Pulmonary Metastases of Colorectal Carcinoma.	Jpn. J. Clin. Oncol.	37(3)	186-192	2007
Gotohda, N., <u>Kinoshita, T.</u> , Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Furuse, J., et al.	New Indication for Reduction Surgery in Patients with Advanced Hepatocellular Carcinoma with Major Vascular Involvement.	World J. Surg.	30(3)	431-438	2006
Gotohda, N., Iwasaki, H., Ozeki, M., Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Yagi, T., <u>Kinoshita, T.</u> , et al.	The Role of a Protease Inhibitor against Hepatectomy.	Hepato-gastroenterol.	53	115-119	2006
Gotohda, N., Ishii, H., Konishi, M., Nakagohri, T., Takahashi, S., Furuse, J., Yoshino, M., and <u>Kinoshita, T.</u>	Selection Criteria for Reduction Hepatectomy in Multiple Advanced Hepatocellular Carcinoma.	Anticancer Res.	26	4671-4674	2006
後藤田直人、小西 大、中郡聡夫、高橋進一郎、 <u>木下 平</u>	バリエーション解析からみた肝切除クリニカルパスの適応	日本消化器外科学会雑誌	39(1)	9-15	2006
中郡聡夫、 <u>木下 平</u> 、小西 大、高橋進一郎、後藤田直人	膵癌・胆道癌の診断と治療 肝内胆管癌の手術	日本臨牀	64(1)	469-475	2006
Kawashima, M., Furuse, J., Nishio, T., Konishi, M., Ishii, H., <u>Kinoshita, T.</u> , Nagase, M., Nihei, K., Ogino, T.	Phase II Study of Radiotherapy Employing Proton Beam for Hepatocellular Carcinoma.	J. Clin. Oncol.	23	1839-1846	2005
Kobayashi, A., Takahashi, S., Hasebe, T., Konishi, M., Nakagohri, T., Gotohda, N. and <u>Kinoshita, T.</u>	Solitary bile duct hamartoma of the liver	Scand. J. Gastroentero.	40	1378-1381	2005
光永修一、小西 大、長谷部孝裕、中郡聡夫、高橋進一郎、後藤田直人、 <u>木下 平</u>	術前診断に苦慮した肝血管筋脂肪腫の2切除例	医学書院	7	693-699	2005