

めの臨床学的考察、ガイドラインにおける「結果に対する特別な定義をしたうえで(例：奏功患者と非奏功患者におけるプロトコル特異的基準)統計解析を計画することを推奨します」の特別な定義を、

(A)CT画像診断による抗腫瘍効果

(B)抗原特異的免疫応答

と設定し、

1：(A)がCR/PR/SDの場合次のワクチン治療に入る、

2：(A)がPDでも、(B)が陽性の場合、次の治療に入る、

3：(A)がPDで、(B)が陰性の場合、ワクチン治療終了、とした。

前述の画像診断および抗原特異的免疫応答の結果をもとに、次のワクチン治療(治療期間2)を実施するか否かを判定し、さらに2週間間隔で4回腫瘍近傍皮下に投与することとした。治療期間2の終了時点で再度、腫瘍効果と抗原特異的免疫応答を解析し、前述の定義に従い、適格と判定されれば、4週間間隔で4回腫瘍近傍皮下に投与することとした。なお臨床試験中に1症例でも重篤な副作用(有害事象)を示した場合、効果・安全性評価委員会の審議の上で本試験の中止か継続の判断がなされる。

本試験デザインは非対照・非盲検・探索的の第II相臨床試験であり、試験全体で対象被験者は合計35症例とした。また20症例を完遂し、各評価が終わった段階で、効果・安全性評価委員会による中間審査を行い、試験継続有無を判断することとした。

本試験研究において、先行実施した探索的の第I相自主臨床試験と同様に、Survivin-H/K-HELP(1mg)、ピシバニール(OK-432：0.02KE)、モンタナイド(Montanide™ ISA51VG オイルアジュバント)の混和物を試験薬とした。

Survivin-H/K-HELPワクチン試験薬の投与による抗腫瘍効果。最良総合効果(RECIST基準)による病勢コントロール率(CR+PR+SD)を評価することを主要エンドポイントとした。本試験におけるSurvivin-H/K-HELPワクチン療法による病勢コントロール率の閾値と期待値は、抗がん剤セツキシマブを用いた大腸癌患者に対する臨床試験結果を参照にした。これらの情報を

もとに、高度先進医療支援センターの臨床統計学の専門家に症例数を依頼した。その結果、適格基準を満たす進行性大腸癌被験者の無処置による病勢コントロール率は0~10%程度と予想されるため、閾値10%、Survivin-H/K-HELPペプチドワクチン投与により30%の病勢コントロール率を期待値とした2段階デザインとし、片側有意水準0.05、検出力0.9とすると、1段階目で20例、2段階目で15例の計35例の登録が必要となると考えた。なお、20症例が終了した時点での中間審査により、再度症例設計を行うことも可能とした。

またワクチン試験薬の投与による有害事象の程度・頻度・種類の確認、Survivin特異的免疫応答性の評価、最良総合効果による奏効率(CR+PR)・臨床的有用率(CR+PR+6ヶ月以上のSD)・全生存期間(Overall Survival)・無病生存期間(Disease Free Survival)・無増悪期間(Time To Progression)・無増悪生存期間(Progression Free Survival)・生存期間中央値(Median Survival Time)・腫瘍マーカー(CEA、CA19-9)、あるいは試験全症例におけるこれらの割合・率の算出、またMRI・PET画像解析による抗腫瘍効果、および抗腫瘍効果と免疫応答性の相関評価を副次エンドポイントとした。

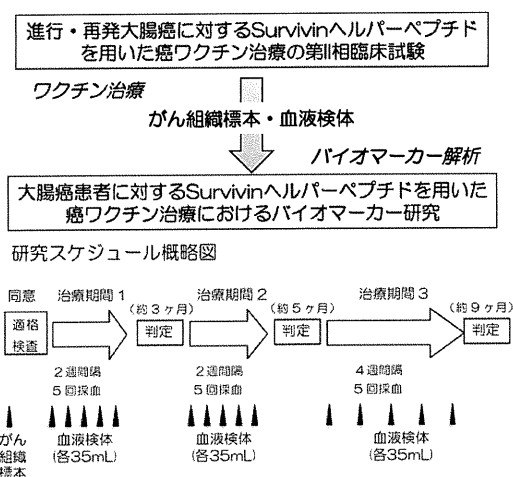
さらに本臨床試験の付随研究として完遂症例を抗腫瘍効果の有無でグループ分けを行い、本臨床試験の過程で得られる被験者のがん組織、血漿・血清、および末梢血リンパ球において、グループ間で相違の見られる核酸(遺伝子)・蛋白質・脂質・糖質を評価し、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となるような標的分子を探索・同定する付随バイオマーカー研究を整備した。

北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院および近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、エントリー基準となるSurvivinがん抗原の解析法(免疫染色および定量PCR法)、評価項目となる免疫モニタリング(抗Survivin抗体価：ELISA、抗原特異的T細胞応答：フローサイトメトリー)、抗腫瘍効果(RECIST基準による画像解析、腫瘍マーカー測定)の判定プロトコルを記載した自主臨床試験実施計画書を作成した。

さらに多施設共同による対象患者の適格基

準、評価に関するがん抗原発現解析ならびにがん抗原特異的抗体価、T細胞応答評価のバリデーション、データ解析のセントラル化を完了した。特に、がん患者の血液では、施設ごとで得られた血液検体サンプルの凍結保存後のT細胞を用いた評価系を検討し、免疫学的モニタリング項目である抗原特異的サイトカイン産生について、測定可能であることを確認した。

さらに本臨床試験実施における付随研究として、がん患者の腫瘍組織を用いたがん抗原発現解析、治療の過程で得られる血液検体について抗腫瘍免疫応答に関するバイオマーカーの解析方法および評価体制を整備した(下図)。



本臨床試験の実施については、北海道大学病院、自主臨床試験倫理審査委員会において審議がなされ、承認された。平成23年度中に、患者のエントリーおよび治療を開始することが可能となった。引き続き、北海道大学遺伝子病制御研究所および近畿大学医学部附属病院倫理審査委員会において審議を予定している。

D. 考察

本研究において、がん抗原特異的ヘルパーT(Th)細胞とキラーT細胞(CTL)の両者を活性化させるハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いたがんペプチドワクチン臨床試験を実施し、日本発の革新的次世代がん免疫治療用ワクチンを開発することを目指している。

今年度、大腸癌を対象にしたがんワクチン治

療による抗腫瘍効果を評価する探索的II相臨床試験の実施に向け、北海道大学病院、近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、免疫染色によるSurvivinがん抗原の解析法、ELISA法による抗Survivin抗体価、フローサイトメトリーによる抗原特異的T細胞応答、RECIST基準による画像解析および腫瘍マーカー測定に基づく抗腫瘍効果の判定プロトコルを確立した。施設ごとで得られた血液検体サンプルの凍結保存後のT細胞を用いた評価系を検討し、免疫学的モニタリング項目である抗原特異的サイトカイン産生について、問題なく測定可能であることが確認されたことから、多施設による本臨床研究が十分に実施可能であると考えた。

さらに全ての完遂症例を抗腫瘍効果の有無で二つにグループ分けし、グループ間で見られる遺伝子、タンパク質等の発現の違いから、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となりそうな因子(バイオマーカー)を探索・同定する研究プロトコルを作成した。従って、次年度以降の計画に基づき、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となりそうな候補因子を同定することで、より効果の高いがんワクチン開発が期待できると考えている。

これらの臨床試験の実施計画について北海道大学病院および北海道大学遺伝子病制御研究所倫理審査委員会にて承認され、近畿大学医学部倫理委員会にて審議申請を行った。本治療試験についてUMIN臨床試験登録システムに登録(UMIN000007506)し、患者のエントリーが開始されたことから、今後、本治療試験および付随バイオマーカー研究を推進することで、日本発のハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いた革新的次世代がん免疫治療用ワクチンの開発に繋がるものと期待される

E. 結論

本年度において、大腸癌を対象にしたがんワクチン治療による抗腫瘍効果を評価する探索的II相臨床試験の実施に向けた整備を行った。参画する北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院、近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、免疫染色によるSurvivinがん抗原の解析法、抗腫瘍免疫モニタリング、および抗腫瘍効果の判定プロトコルを確立した。本治療試験は、北海道大学病院および遺伝子病制御研究所に設置された倫理審査委員会による承認後、UMIN臨床試験登録システムに登録

(UMIN000007506)するとともに、本治療試験のエントリーを開始し、大腸癌患者の登録がなされた。

今後、本研究を推進し、ワクチン投与による抗腫瘍効果および免疫応答性を検証・評価することにより、より精度・効果の高い次世代がんワクチン開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Okuno K, Horiuchi T, Ishibashi T, Shigeoka H, Hayashibe A, Tsubakihara H. Prognostic factors in gastrointestinal perforation Hepato-Gastroenterology 58: 1598-1602, 2011.
- 2) Okuno K, Sugiura F, Hida J, Tokoro T, Ishimaru E, Sukegawa Y, Ueda K. Phase I clinical trial of a novel peptide vaccine in combination with UFT/LV for metastatic colorectal cancer. *Experimental and Therapeutic Medicine* 2: 73-79, 2011
- 3) Okuno K, Uno K: Efficacy of orally administered *Lentinula edodes* Mycelia extract for advanced gastrointestinal cancer patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention* 12: 1-4, 2011
- 4) Okuno K, Sugiura F, Itoh K, Yoshida K, Tsunoda T, Nakamura Y. Recent advances in active specific cancer vaccine treatment for colorectal cancer. *Current Pharmaceutical Biotechnology*. 2012 in press.
- 5) Takahashi N, Ohkuri T, Homma S, Ohtake J, Wakita D, Togashi Y, Kitamura H, Todo S, Nishimura T. First clinical trial of cancer vaccine therapy with artificially synthesized helper/killer-hybrid epitope long peptide of MAGE-A4 cancer antigen. *Cancer Sci.*, 130: 150-153, 2012.
- 6) Noguchi K, Okumura F, Takahashi N, Kataoka A, Kamiyama T, Todo S, Hatakeyama S. TRIM40 promotes neddylation of IKK γ and is downregulated in gastrointestinal cancers *Carcinogenesis*, 32: 995-1004, 2011.
- 7) Mino K, Ozaki M, Nakanishi K, Haga S, Sato M, Kina M, Takahashi M, Takahashi N, Kataoka A, Yanagihara K, Ochiya T, Kamiyama T, Umezawa K, Todo S. Inhibition of nuclear factor- κ B suppresses peritoneal dissemination of gastric cancer by blocking cancer cell adhesion. *Cancer Sci.*, 102: 1052-1058, 2011.
- 8) 奥野清隆：「消化器外科レビュー2011」-II 章免疫-監修：渡邊昌彦、國土典宏、土岐祐

- 一郎、総合医学社(東京)、p. 227-232 (2011)
- 9) 奥野清隆：「大腸の構造と機能」-インフォームドコンセントのための図説シリーズ大腸がん改訂第4版-医薬ジャーナル社(大阪)、印刷中(2011)
- 10) 奥野清隆、所 忠男：「S状結腸切除術 消化器外科」-アトラスで学ぶ達人の手術-、34: 822-829 (2011)
- 11) 奥野清隆：「大腸癌の免疫療法」日本臨床(増刊号) 大腸癌-、69: 574-578 (2011)
- 12) 奥野清隆：「わが国のがんワクチン療法の克服すべき課題-がん治療用ワクチン療法 FDAガイダンスを軸に-」、*Biotherapy*、25(6)：845-850 (2011)
- 13) 奥野清隆：「ゲノム解析による腫瘍抗原の同定」腫瘍内科、8(5)：405-408 (2011)
- 14) 奥野清隆、杉浦史哲、肥田仁一、所 忠男、石丸英三郎、上田和毅：「Stage III大腸癌におけるがんペプチドワクチンとUFT/LV併用による術後補助療法(HLA-Key Open法)」癌と化学療法、38(12)：1906-1908 (2011)
- 15) 助川 寧、奥野清隆：「開発が進んでいるがんワクチン療法の現状と展望」近大医誌、36(2)：71-79 (2011)
- 16) 奥野清隆、杉浦史哲、肥田仁一、所 忠男、石丸英三郎、上田和毅、大東弘治、塩崎均：「進行・再発大腸癌に対するペプチドワクチン+UFT/LV併用療法」日外科系連会誌、37(1)：46-49, 2012

2. 学会発表

- 1) Okuno K: Vaccination with colorectal cancer-specific peptides in combination with oral chemotherapy for metastatic colorectal cancer patients. 3rd Annual World Vaccine Congress-2011, Beijing, China, March 2011.
- 2) Okuno K: Tokoro T, Hida J, Ishimaru E, Ueda K, Sugiura F: Prognostic Impact of Mesorectal Invasion in T3N0 Low Rectal Cancer. 21st World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists (IASGO), Tokyo, Nov. 2011.
- 3) Okuno K: Immunologic responses of colorectal cancer-specific peptide vaccination in combination with UFT/LV chemotherapy for metastatic colorectal cancer patients. 21st World Congress of the International Association of Surgeons, Gastroenterologists and Oncologists (IASGO), Tokyo, Nov. 2011.
- 4) 奥野清隆、中居卓也：バイオセラピーを併用した集学的治療、シンポジウム：転移性

肝癌治療の最前線、第28回日本医学会総会
(東京、Web発表) 2011年4月

- 5) 奥野清隆、杉浦史哲、肥田仁一、所 忠男、石丸英三郎、上田和毅：ステージIII大腸癌におけるがんペプチドワクチンとUFT/LV併用による術後補助療法(HLA-key open法)。第32回癌免疫外科研究会、シンポジウム、(和歌山) 2011年5月
- 6) 奥野清隆、杉浦史哲、肥田仁一、所 忠男、石丸英三郎、上田和毅、大東弘治、塩崎均：標準療法抵抗性の進行・再発大腸癌に対するペプチドワクチン+UFT/LV療法 第36回日本外科系連合学会学術集会、シンポジウム(浦安) 2011年6月
- 7) 奥野清隆、杉浦史哲、所 忠男、肥田仁一、吉田浩二、角田卓也、中村祐輔：Stage III大腸癌術後におけるがんペプチドワクチンとUFT/LV併用療法。第66回日本消化器外科学会総会、シンポジウム、(名古屋) 2011年7月
- 8) 奥野清隆：がんペプチドワクチンとUFT/LV併用によるStage III大腸癌の新しい術後補助療法。第49回日本癌治療学会学術集会(名古屋) 2011年10月
- 9) 奥野清隆、杉浦史哲、安積達也、助川 寧、

大竹淳矢、北村秀光、西村孝司：次世代がんワクチンhelper/killer hybrid epitope long peptide (H/K HELP)のTh1免疫誘導と臨床効果。第24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(和歌山) 2011年12月

- 10) 西村孝司、大栗敬幸、大竹淳矢、脇田大功、奥野清隆、藤堂省、高橋典彦、北村秀光：A novel cancer vaccine therapy using helper/killer hybrid epitope long peptide(H/K-HELP) to cure human cancer (ヒトがん制圧を目指した次世代H/K-HELPがんワクチン治療の開発)：第70回日本癌学会学術総会 名古屋国際会議場 愛知 2011年10月
- 11) 高橋典彦「大腸がんの外科治療」市民公開講座<大腸がんを知ろう！2011年8月

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし

進行・再発乳癌に対するハイブリッドロングペプチドを用いたがんワクチン治療に関する研究

研究分担者 綿谷 正弘 近畿大学医学部外科 教授

研究分担者 高橋 弘昌 北海道大学病院第一外科 准教授

研究要旨

革新的ながんワクチン治療の開発を目指し、ヘルパーT細胞とキラーT細胞を同時に活性化することのできるハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いた非対照・非盲検・探索的II相臨床試験を実施する。

本試験は、Survivinがん抗原を発現している進行・再発乳癌を有するなど各基準を満たした被験者にSurvivinヘルパーペプチド(1mg)を含むがんワクチン試験薬を腫瘍近傍皮下に反復投与することによる抗腫瘍効果の評価を行う。主目的として最良総合効果(RECIST規準)による臨床的有用率(CR+PR+6ヶ月以上のSD)の評価を行い、副次目的として安全性評価の再確認、免疫応答性の評価、および抗腫瘍効果と免疫応答性との相関を確認する。本試験全体で対象被験者は合計40症例とした。

本臨床試験研究において、Survivin-H/K-HELP(1mg)、ピシバニール(OK-432:0.02KE)、モンタナイド(Montanide™ ISA51VG オイルアジュバント)の混和物を試験薬とし、腫瘍近傍皮下に2週間隔で4~8回(治療期間1および2)、4週間隔で4回(治療期間3)投与されることとした。各治療期間終了後に抗腫瘍効果・免疫応答性の結果から次のワクチン治療を実施するか判定することとした。また本臨床試験の付随研究として完遂症例を抗腫瘍効果の有無でグループ分けを行い、本臨床試験の過程で得られる被験者のがん組織、血液検体において、グループ間で相違の見られるバイオマーカーを評価し、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となるような標的分子を探索・同定する。

本治療試験の実施について、北海道大学病院、北海道大学遺伝子病制御研究所の倫理審査委員会にて承認されるとともに、近畿大学医学部倫理審査委員会に審議申請した。さらにUMIN臨床試験登録システムに登録(UMIN000007507)するとともに、大腸癌被験者のエントリーを開始した。最終的に、本治療試験および付随バイオマーカー研究を推進することで、より精度・効果の高いがんワクチン治療の開発に繋げる。

A. 研究目的

本研究において、がん抗原特異的ヘルパーT(Th)細胞とキラーT細胞(CTL)の両者を活性化させるハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いたがんペプチドワクチン臨床試験を実施し、日本発の革新的次世代がん免疫治療用ワクチンを開発することを目指している。

本臨床試験において、Survivin抗原を発現する乳癌をもつがん患者に対して、Survivin-H/K-HELPワクチン(1mg)を腫瘍組織の近傍皮下に反復投与して、抗腫瘍効果を確認する。抗腫瘍効果はCT画像診断によりRECIST

規準で最良総合効果を判定し、Survivin-H/K-HELPを用いたがんワクチン治療の有効性を評価する項目、体制を構築する。

また副次エンドポイントとして、ワクチンの投与による有害事象の程度・頻度・種類の確認、Survivin特異的免疫応答性の評価、最良総合効果による主要エンドポイント以外の抗腫瘍効果、およびそれらの割合・率の算出を行う。さらに抗腫瘍効果と免疫応答性の相関評価を検証する評価項目を決定する。

また本臨床試験の付随研究として、全ての完遂症例を抗腫瘍効果の有無で二つにグループ分けし、グループ間で差異の見られる高い抗腫

瘍効果を誘導するための鍵となりそうな標的分子を探索・同定するバイオマーカー研究の実施体制を整備する。

最終的に、本ペプチドワクチン臨床試験および付随バイオマーカー研究を、北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院および近畿大学医学部と連携し、迅速に遂行することで、より精度・効果の高いがんワクチン治療の開発を目指す。

B. 研究方法

進行・再発乳癌を対象にした、Survivin-H/K-HELP を用いたがんワクチン治療の探索的Ⅱ相臨床試験の実施に向けた整備を行う。

北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院および近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、エントリー基準となるSurvivin がん抗原の解析法、評価項目となる免疫モニタリング、抗腫瘍効果の判定プロトコルを記載した自主臨床試験実施計画書を作成する。

多施設共同による本研究の遂行が可能な対象患者の症例数、適格基準の決定、評価に関するがん抗原発現解析ならびにがん抗原特異的抗体価、T 細胞応答評価の標準化、データ解析のセントラル化を行う。

さらに本臨床試験実施における付随研究として、がん患者の腫瘍組織を用いたがん抗原発現解析、治療の過程で得られる血液検体について抗腫瘍免疫応答に関係するバイオマーカーの解析・評価体制を整備する。

本臨床試験の実施について、各施設における倫理審査委員会申請に必要な実施計画書、患者説明文書、試験参加同意書、さらに倫理委員会申請書、試験薬概要書、症例報告書、手順書等を作成し、申請・承認後、ワクチン治療試験を開始する。

(倫理面への配慮)

がんワクチン治療臨床試験は、北海道大学遺伝子病制御研究所と連携し、北海道大学病院および近畿大学医学部附属病院で実施する。本臨床試験は「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」および「臨床研究に関する倫理指針」を遵守し、患者説明文書、試験参加同意書、さらに倫理委員会申請書、臨床試験計画書、試験薬概要書、症例報告書、手順書等を準備し、各大学、各施設倫理委員

会の承認を得た上で実施する。

本研究に用いるヒト検体については、本研究の趣旨を十分に説明し、文書による同意を得た上で、提供される。検体の提供者、その家族、血縁者および関係者の人権および利益の保護の取り扱いに十分に配慮し、研究を遂行する。本研究は、各施設の倫理審査委員会の承認を得て実施している。

また、北海道大学遺伝子病制御研究所免疫制御分野に事務センターを置き、北海道臨床開発機構や北海道大学病院高度先進医療支援センターと連携しながら、健康危険情報を含む全ての情報について各施設の研究者と共有できるようにシステムを組む。

C. 研究結果

平成 23 年度において、進行・再発乳癌を対象にした、ヘルパー/キラーハイブリッドロングペプチド (H/K-HELP) を用いたがんワクチン治療の探索的Ⅱ相臨床試験の実施に向けた整備を行った。

北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院および近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と協議し、今回の試験について、対象となる被験者を次のように決定した。

進行あるいは再発乳癌で標準治療不応の患者において、Survivin 抗原を発現し、かつHLA が当該ペプチドに結合し得る型を発現し、手術不能例あるいは術後再発例で、標準的な治療（化学療法1レジメン以上、放射線療法1コース以上など）を受け、それらの効果が認められない、あるいは標準的な治療法を1レジメンあるいは1コース以上受けた症例で、その後の標準治療を拒否したものの、CT画像診断による測定可能病変を有するもの、Performance Statusが2以下、4ヶ月以上の生存が見込め、骨髄機能、腎機能、肝機能が基準値以上で保たれているもの、本臨床研究を理解し、文書による同意が得られている患者を本試験の対象とした。

今回の臨床試験では適格基準を満たした被験者に対し、まず初めに治療期間1として、2週間間隔で4回腫瘍近傍皮下に投与し、抗腫瘍効果と抗原特異的免疫応答を解析することとした。

本試験においては、合衆国連邦保険福祉省食品医薬品局 (FDA)、がん治療用ワクチンのための臨床学的考察、ガイドラインにおける「結

果に対する特別な定義をしたうえで(例：奏功患者と非奏功患者におけるプロトコル特異的基準)統計解析を計画することを推奨します」の特別な定義を、

(A)CT画像診断による抗腫瘍効果

(B)抗原特異的免疫応答

と設定し、

1：(A)がCR/PR/SDの場合次のワクチン治療に入る、

2：(A)がPDでも、(B)が陽性の場合、次の治療に入る、

3：(A)がPDで、(B)が陰性の場合、ワクチン治療終了、とした。

前述の画像診断および抗原特異的免疫応答の結果をもとに、次のワクチン治療(治療期間2)を実施するか否かを判定し、さらに2週間間隔で4回腫瘍近傍皮下に投与することとした。治療期間2の終了時点で再度、腫瘍効果と抗原特異的免疫応答を解析し、前述の定義に従い、適格と判定されれば、4週間間隔で4回腫瘍近傍皮下に投与することとした。なお臨床試験中に1症例でも重篤な副作用(有害事象)を示した場合、効果・安全性評価委員会の審議の上で本試験の中止か継続の判断がなされる。

本試験デザインは非対照・非盲検・探索的の第II相臨床試験であり、試験全体で対象被験者は合計40症例とした。また20症例を完遂し、各評価が終わった段階で、効果・安全性評価委員会による中間審査を行い、試験継続有無を判断することとした。

本試験研究において、先行実施した探索的の第I相自主臨床試験と同様に、Survivin-H/K-HELP(1mg)、ピシバニール(OK-432:0.02KE)、モンタナイド(Montanide™ ISA51VG オイルアジュバント)の混和物を試験薬とした。

Survivin-H/K-HELPワクチン試験薬の投与による抗腫瘍効果。最良総合効果(RECIST規準)による臨床的有用率(CR+PR+6ヶ月以上のSD)を評価することを主要エンドポイントとした。本試験における適応症例を満たす被験者のSurvivin-H/K-HELPワクチン療法による生存率の閾値と期待値は、抗悪性腫瘍剤ハラヴェン(株式会社エーザイ)を用いた臨床試験における臨床的有用率(17.2~22.6%)と無処置群に

おける臨床的有用率(16.8%)、PFS(中央値64~92日)などを参考にした。これらの情報をもとに、高度先進医療支援センターの臨床統計学の専門家に症例数を依頼した。臨床的有用率の閾値は15%、Survivin-H/K-HELPペプチドワクチン投与により35%程度の臨床的有用率を期待し、有意水準0.05、検出力0.9とすると40症例となった。なお、20症例が終了した時点での中間審査により、再度症例設計を行うことも可能とした。

またワクチン試験薬の投与による有害事象の程度・頻度・種類の確認、Survivin特異的免疫応答性の評価、最良総合効果による奏効率(CR+PR)・病勢コントロール率(CR+PR+SD)・全生存期間(Overall Survival)・無病生存期間(Disease Free Survival)・無増悪期間(Time To Progression)・無増悪生存期間(Progression Free Survival)・生存期間中央値(Median Survival Time)・腫瘍マーカー(CEA, CA19-9)、あるいは試験全症例におけるこれらの割合・率の算出、またMRI・超音波画像解析による抗腫瘍効果、および抗腫瘍効果と免疫応答性の相関評価を副次エンドポイントとした。

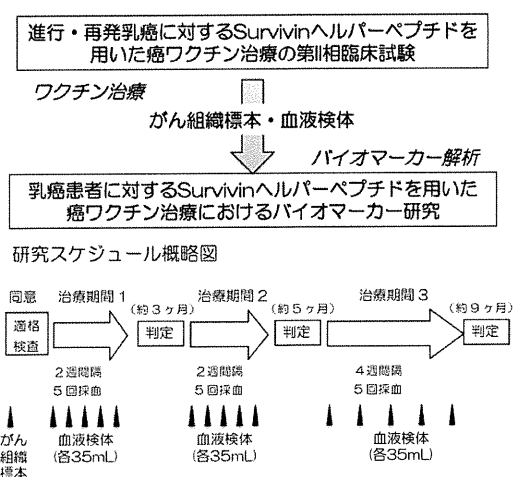
さらに本臨床試験の付随研究として完遂症例を抗腫瘍効果の有無でグループ分けを行い、本臨床試験の過程で得られる被験者のがん組織、血漿・血清、および末梢血リンパ球において、グループ間で相違の見られる核酸(遺伝子)・蛋白質・脂質・糖質を評価し、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となるような標的分子を探索・同定する付随バイオマーカー研究を整備した。

北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院および近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、エントリー基準となるSurvivinがん抗原の解析法(免疫染色および定量PCR法)、評価項目となる免疫モニタリング(抗Survivin抗体価：ELISA、抗原特異的T細胞応答：フローサイトメトリー)、抗腫瘍効果(RECIST基準による画像解析、腫瘍マーカー測定)の判定プロトコルを記載した自主臨床試験実施計画書を作成した。

さらに多施設共同による対象患者の適格基準、評価に関するがん抗原発現解析ならびにがん抗原特異的抗体価、T細胞応答評価のバ

リレーション、データ解析のセントラル化を完了した。特に、がん患者の血液では、施設ごとで得られた血液検体サンプルの凍結保存後のT細胞を用いた評価系を検討し、免疫学的モニタリング項目である抗原特異的サイトカイン産生について、測定可能であることを確認した。

さらに本臨床試験実施における付随研究として、がん患者の腫瘍組織を用いたがん抗原発現解析、治療の過程で得られる血液検体について抗腫瘍免疫応答に関係するバイオマーカーの解析方法および評価体制を整備した(下図)。



本臨床試験の実施については、北海道大学病院、自主臨床試験倫理審査委員会において審議がなされ、承認された。平成23年度中に、患者のエントリーおよび治療を開始することが可能となった。引き続き、北海道大学遺伝子病制御研究所および近畿大学医学部附属病院倫理審査委員会において審議を予定している。

D. 考察

本研究において、がん抗原特異的ヘルパーT(Th)細胞とキラーT細胞(CTL)の両者を活性化させるハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いたがんペプチドワクチン臨床試験を実施し、日本発の革新的次世代がん免疫治療用ワクチンを開発することを目指している。

今年度、乳癌を対象にしたがんワクチン治療による抗腫瘍効果の評価する探索的II相臨床試験の実施に向け、北海道大学病院、近畿大

学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、免疫染色によるSurvivinがん抗原の解析法、ELISA法による抗Survivin抗体価、フローサイトメトリーによる抗原特異的T細胞応答、RECIST基準による画像解析および腫瘍マーカー測定に基づく抗腫瘍効果の判定プロトコルを確立した。施設ごとで得られた血液検体サンプルの凍結保存後のT細胞を用いた評価系を検討し、免疫学的モニタリング項目である抗原特異的サイトカイン産生について、問題なく測定可能であることが確認されたことから、多施設による本臨床研究が十分に実施可能であると考えた。

さらに全ての完遂症例を抗腫瘍効果の有無で二つにグループ分けし、グループ間で見られる遺伝子、タンパク質等の発現の違いから、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となりそうな因子(バイオマーカー)を探索・同定する研究プロトコルを作成した。従って、次年度以降の計画に基づき、高い抗腫瘍効果を誘導するための鍵となりそうな候補因子を同定することで、より効果の高いがんワクチン開発が期待できると考えている。

これらの臨床試験の実実施計画について北海道大学病院および北海道大学遺伝子病制御研究所倫理審査委員会にて承認され、近畿大学医学部倫理委員会にて審議申請を行った。本治療試験についてUMIN臨床試験登録システムに登録(UMIN000007507)し、患者のエントリーが開始されたことから、今後、本治療試験および付随バイオマーカー研究を推進することで、日本発のハイブリッドロングペプチド(H/K-HELP)を用いた革新的次世代がん免疫治療用ワクチンの開発に繋がるものと期待される

E. 結論

本年度において、乳癌を対象にしたがんワクチン治療による抗腫瘍効果の評価する探索的II相臨床試験の実施に向けた整備を行った。参画する北海道大学遺伝子病制御研究所、北海道大学病院、近畿大学医学部附属病院の医師・研究者と連携し、免疫染色によるSurvivinがん抗原の解析法、抗腫瘍免疫モニタリング、および抗腫瘍効果の判定プロトコルを確立した。本治療試験は、北海道大学病院および遺伝子病制御研究所に設置された倫理審査委員会による承認後、UMIM臨床試験登録システムに登録(UMIN000007507)するとともに、本治療試験のエントリーを開始した。

今後、本研究を推進し、ワクチン投与による抗腫瘍効果および免疫応答性を検証・評価することにより、より精度・効果の高い次世代がんワクチン開発が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Azuma K, Tsurutani J, Sakai K, Kaneda H, Fujisaka Y, Takeda M, Watatani M, Arao T, Satoh T, Okamoto I, Kurata T, Nishio K, Nakagawa K. Switching addictions between HER2 and FGFR2 in HER2-positive breast tumor cells: FGFR2 as a potential target for salvage after lapatinib failure. 407: 219-224, 2011
- 2) Hirao A, Oiso N, Tsurutani J, Kimura M, Watatani M, Nakagawa K, Kawada A. Transient effectiveness of an oral 5-Fluorouracil derivative, s-1, for epirubicin, cyclophosphamide and Paclitaxel refractory skin metastases from possible occult breast cancer in a male. Case Rep Dermatol. 3: 42-48, 2011
- 3) 島田慎吾、山本 貢、細田充主、田口和典、高橋弘昌、藤堂 省：「劣性栄養障害型表皮水疱症を併存した乳癌に対して全身麻酔下で乳房切除を施行した1例」日本臨床外科学会雑誌、72(1)：27-31 (2011)
- 4) 中駄邦博、櫻井正之、細田充主、田口和典、高橋弘昌：「甲状腺腫瘍の検査・診断 甲

状腺腫瘍の画像診断」日本臨床、69(Suppl 2)：308-319 (2011)

- 5) 相山 健、藤田裕美、細田充主、田口和典、高橋弘昌、藤堂 省：「腫瘍自覚10年後に切除した乳腺 invasive cribriform carcinoma の1例」日本臨床外科学会雑誌、72(7)：1715-1720 (2011)
- 6) 島田慎吾、山本 貢、細田充主、田口和典、高橋弘昌、山田洋介、藤堂 省：「転移リンパ節の迷走神経浸潤による嗄声で発見された甲状腺オカルト癌の1例」内分泌外科、28(3)：186-190 (2011)
- 7) 高橋弘昌、細田充主、山本 貢、田口和典、松野吉宏：「乳頭癌を除く結節性甲状腺腫の手術適応に関する検討」内分泌外科、28(4)：245-250 (2011)

2. 学会発表

特になし

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

特になし

2. 実用新案登録

特になし

Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
奥野清隆	II章 7.免疫	渡邊昌彦、 國土典宏、 土岐祐一郎	消化器外科レ ビュー2011	総合医学 社	東京	2011	227-232

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
Takahashi N, Ohtsuki T, Homma S, Ohtake J, Wakita D, Togashi Y, Kitamura H, Todo S, Nishimura T	First clinical trial of cancer vaccine therapy with artificially synthesized helper/killer-hybrid epitope long peptide of MAGE-A4 cancer antigen.	<i>Cancer Sci.</i>	130	150-153	2012
Noguchi K, Okumura F, Takahashi N, Kataoka A, Kamiyama T, Todo S, Hatakeyama S.	TRIM40 promotes neddylation of IKKgamma and is downregulated in gastrointestinal cancers	<i>Carcinogenesis</i>	32	995-1004	2011
Mino K, Ozaki M, Nakanishi K, Haga S, Sato M, Kina M, Takahashi M, Takahashi N, Kataoka A, Yanagihara K, Ochiya T, Kamiyama T, Umezawa K, Todo S.	Inhibition of nuclear factor-kappaB suppresses peritoneal dissemination of gastric cancer by blocking cancer cell adhesion.	<i>Cancer Sci.</i>	102	1052-1058	2011
Okuno K, Horiuchi T, Ishibashi T, Shigeoka H, Hayaishi A, Tsubakihara H.	Prognostic factors in gastrointestinal perforation	<i>Hepato-Gastroenterology</i>	58	1598-1602	2011
Okuno K, Sugiura F, Hida J, Tokoro T, Ishimaru E, Sukegawa Y, Ueda K.	Phase I clinical trial of a novel peptide vaccine in combination with UFT/LV for metastatic colorectal cancer.	<i>Experimental and Therapeutic Medicine</i>	2	73-79	2011
Okuno K, Uno K	Efficacy of orally administered Lentinula edodes Mycelia extract for advanced gastrointestinal cancer patients undergoing cancer chemotherapy: a pilot study.	<i>Asian Pacific Journal of Cancer Prevention</i>	12	1-4	2011

Okuno K, Sugiura F, Itoh K, Yoshida K, Tsunoda T, Nakamura Y.	Recent advances in active specific cancer vaccine treatment for colorectal cancer.	Current Pharmaceutical Biotechnology.	In press		2012
Azuma K, Tsurutani J, Sakai K, Kaneda H, Fujisaka Y, Takeda M, Watatani M, Arao T, Satoh T, Okamoto I, Kurata T, Nishio K, Nakagawa K.	Switching addictions between HER2 and FGFR2 in HER2-positive breast tumor cells: FGFR2 as a potential target for salvage after lapatinib failure.	Biochem Biophys Res Commun	407	219-224	2011
Hirao A, Oiso N, Tsurutani J, Kimura M, Watatani M, Nakagawa K, Kawada A.	Transient effectiveness of an oral 5-Fluorouracil derivative, s-1, for epirubicin, cyclophosphamide and Paclitaxel refractory skin metastases from possible occult breast cancer in a male.	Case Rep Dermatol.	3	42-48	2011
西村孝司	実地医療と臨床研究1: がん特異的免疫治療の進歩と細胞治療の問題点	腫瘍内科	8	470-447	2011
西村孝司、脇田大功、富樫裕二、北村秀光	がん特異的な細胞治療の現状	カレントセラピー	29	61-66	2011
島田慎吾、山本貢、細田充主、田口和典、高橋弘昌、藤堂 省	劣性栄養障害型表皮水疱症を併存した乳癌に対して全身麻酔下で乳房切除を施行した1例	日本臨床外科学会雑誌	72	27-31	2011
相山 健、藤田裕美、細田充主、田口和典、高橋弘昌、藤堂 省	腫瘍自覚10年後に切除した乳腺invasive cribriform carcinomaの1例	日本臨床外科学会雑誌	72	1715-1720	2011
奥野清隆	大腸癌の免疫療法	日本臨床	69	574-578	2011
奥野清隆	わが国のがんワクチン療法の克服すべき課題—がん治療用ワクチン療法FDAガイダンスを軸に—	Biotherapy	25	845-850	2011
奥野清隆	ゲノム解析による腫瘍抗原の同定	腫瘍内科	8	405-408	2011
奥野清隆、杉浦史哲、肥田仁一、所忠男、石丸英三郎、上田和毅	Stage III大腸癌におけるがんペプチドワクチンとUFT/LV併用による術後補助療法(HLA-Key Open法)	癌と化学療法	38	1906-1908	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

7. 免疫

おくの きよたか
奥野清隆
近畿大学 外科学

最近の動向

癌免疫療法はモノクローナル抗体と癌ペプチドワクチンの登場で、まさに本来の癌特異的な免疫療法の歩みが始まった。消化器癌の領域でも大腸癌治療における抗 VEGF (vascular endothelial growth factor) 抗体, 抗 EGFR (epidermal growth factor receptor) 抗体は化学療法剤との組合せで確固たる地位を築いている。また, 癌ペプチドワクチンは 2010 年 4 月米国 FDA が進行前立腺癌に対する癌ワクチン (Provenge[®]) を認可したことを契機に急速に治験が進んでおり, 欧米で第 II/III 相に達している臨床研究も多い。本邦でも, 種々の消化器癌に対してペプチドワクチンに関する臨床試験が展開されており, 有望な臨床試験から企業主導の治験も開始されている。

はじめに

癌免疫療法は従来の非特異的免疫賦活剤 (細菌製剤やキノコ由来糖蛋白製剤など) から近年, 大きな変革期を迎えている。すなわち分子標的治療薬と称されるモノクローナル抗体¹⁾ やペプチドワクチンによる癌特異的キラー T 細胞 (CTL) 誘導による治療²⁾ が臨床に登場し, いよいよ本来の免疫療法, いわゆる癌特異的免疫療法の時代が到来したといえる。2010 年 4 月米国 FDA が進行前立腺癌に対する癌ワクチン (Provenge[®]) を認可したことも特筆すべき話題である。本稿では最新の話題紹介ということで, あえてこの 2 項目に絞って詳述したい。

モノクローナル抗体

造血器腫瘍や乳癌では, リツキシマブやトラスツズマブはすでに必須の治療薬となっている。消化器外科領域でも一部の胃癌, 大腸癌では重要な地位を占めるようになってきた。

1. HER2 (ErbB2) に対する抗体

a) Trastuzumab トラスツズマブ

HER2 蛋白に特異的に結合するヒトモノクローナル抗体 (IgG1) であり,

- 1) 豊田昌徳, 南 博信: 固形がんに対する抗体療法. *Mebio* 27 : 88-100, 2010
- 2) Nagorsen D, Thiel E : HLA typing demands for peptide-based anti-cancer vaccine. *Cancer Immunol Immunother* 57 : 1903-1910, 2008

HER2 を介する癌細胞増殖のシグナル伝達抑制作用に加え、抗体の Fc 領域を介した抗体依存性細胞傷害 (ADCC) 活性や補体依存性細胞傷害機構 (CDC) で癌細胞傷害を誘導すると考えられている。胃癌では約 20% に HER2 過剰発現がみられ、それらを対象にした切除不能胃癌、および食道胃接合部癌に対する化学療法 (capecitabine/cisplatin または 5-FU/cisplatin) + Trastuzumab vs 化学療法単独の第 III 相試験 (ToGA 試験) では有意に全生存期間を改善した (13.8 mo vs 11.1mo, $p=0.0046$)³⁾ ことから、今後の適応拡大が期待される。

2. HER1 (ErbB1 : EGFR) に対する抗体

抗体が EGFR 蛋白に特異的に結合し、細胞内刺激伝達を競合阻害することで、抗腫瘍活性を発揮する。ところが、大腸癌の約 40% では *K-RAS* 変異があり、RAS-RAF-MAPK 経路の活性が恒常的に持続している。したがって、このようなタイプには EGFR を阻害しても下流のシグナル伝達が抑制できないため、治療効果は得られないことになる。

a) Cetuximab セツキシマブ

ヒト・マウスキメラ抗体 (サブクラスは IgG1) であり、作用機序は上記同様シグナル伝達阻害による増殖抑制と ADCC, CDC 活性による癌細胞傷害と考えられる。キメラ抗体であるため、4~20% に infusion reaction が認められるほか、皮膚毒性、下痢、低 Mg 血症がみられる。当初、EGFR 陽性大腸癌に用いられたが、上述の理由から *K-RAS* 変異型には治療効果が期待できないことがわかり、野生型 (wild type) に限り治療が推奨される。

切除不能肝転移を有する大腸癌に FOLFOX6 または FOLFIRI に Cetuximab を併用するランダム化第 II 相試験 (CELIM) では、奏効率は 68% と 57%, R0 切除率は 38% と 30% であった。しかし *K-RAS* の状況で検討すると、野生型の奏効率は 70% に対して変異型では 41% という結果になった⁴⁾。

転移・再発大腸癌のランダム化第 II 相試験 (OPUS) では、Cetuximab+FOLFOX4 vs FOLFOX4 が比較され、奏効率は 46% vs 36%, 無増悪生存期間 (PFS) はともに 7.2 mo で有意差なし。しかし、サブセット解析を行うと *K-RAS* 野生型では奏効率は 61% vs 37% ($p=0.011$), PFS は 7.7 mo vs 7.2 mo ($p=0.0163$) となり、Cetuximab の上乗せ効果がみられた⁵⁾。

b) Panituzumab パニツムマブ

完全ヒトモノクローナル抗体 (サブクラスは IgG2) であり、Cetuximab より強く EGFR に結合するが、IgG2 であるため Fc レセプターとの結合は弱く ADCC 活性は誘導されない。完全ヒト型抗体であるため、infusion reaction の発症は 1% 以下であるが皮膚毒性、下痢などはみられる。

転移・再発大腸癌に対する FOLFOX4 vs FOLFOX4+Panituzumab の第 III 相試験 (PRIME) では、*K-RAS* 野生型での PFS は 8.0 mo vs 9.6 mo ($p=0.02$) と有意差を認めたものの奏効率は 48% vs 55%, 全生存期間は 19.7 mo vs 23.9

3) Bang YJ, Van Cutsem E, Feyereislova A et al : Trastuzumab in combination with chemotherapy versus chemotherapy alone for treatment of HER2-positive advanced gastric or gastro-oesophageal junction cancer (ToGA) : a phase 3, open-label, randomised controlled trial. *Lancet* 376 : 687-697, 2010

4) Folprecht G, Gruenberger T, Bechstein WO et al : Tumor response and secondary resectability of colorectal liver metastases following neoadjuvant chemotherapy with cetuximab : the CELIM randomized phase 2 trial. *Lancet Oncol* 11 : 38-47, 2010

5) Bokemeyer C, Bondarenko I, Makhson A et al : Fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin with and without cetuximab in the first-line treatment of metastatic colorectal cancer. *J Clin Oncol* 27 : 663-671, 2009

moと有意差は認められなかった⁶⁾。

3. VEGF に対する抗体

腫瘍の増大、進展には血管新生が必須であることから、その増殖因子 VEGF ファミリー、ならびにレセプターは新規薬剤の格好の標的として注目されている。

■ Bevacizumab ベバシツマブ

ヒト化モノクローナル抗体（サブクラスは IgG1）であり、血中の VEGF-A と特異的に結合することで VEGF がレセプターと結合するのを阻害して抗腫瘍効果を発揮する。また腫瘍血管の透過性改善により、化学療法剤の腫瘍内移行を増強する効果もあると考えられている。

転移・再発大腸癌に対する IFL vs IFL+Bev. の第 III 相試験 (AVF 2107g) では全生存期間は 15.6 mo vs 20.3 mo (HR=0.66, p<0.001)、無増悪生存期間は 6.2 mo vs 10.6 mo (HR=0.54, p<0.001)、奏効率は 34.8% vs 44.8% (p=0.004) と併用療法の有効性が示された⁷⁾。さらに、フッ化ピリミジンとイリノテカン抵抗例に対する二次治療としての FOLFOX4 vs FOLFOX+Bev. の第 III 相試験 (E3200) では全生存期間は 10.8 mo vs 12.9 mo (HR=0.75, p=0.0011)、無増悪生存期間は 4.8 mo vs 7.2 mo (HR=0.61, p<0.0001)、奏効率は 8.6% vs 22.7% (p<0.0001) と、併用療法が優れていた⁸⁾。

ペプチドワクチン

メラノーマにおけるヒト癌拒絶抗原が証明されて以来、消化器癌領域においても次々と癌関連抗原が報告された。我が国ではキラー T 細胞 (CTL) 誘導を目指した HLA-A24 (本邦では約 60% が該当) に結合する 9 個程度のペプチドを用いた研究が主流である。例えば Itoh ら^{9, 10)} は、患者リンパ球を採取し、反応性の高い癌抗原ペプチドを選択するテラーメイド型ワクチン療法を展開してきた。中村ら^{11, 12)} は網羅的ゲノム解析から新規の癌関連抗原を同定し、それによって得られた抗原からペプチドワクチンのスクリーニングを行い、各癌腫別に適切なペプチドを選択し、全国約 60 施設の共同研究ネットワークを通じてその臨床試験を展開している。Sugiyama¹³⁾ らは、多種類の癌腫に発現がみられる WT1 ペプチドを用いた臨床研究を行っている。

一方、欧米では多種多様な癌関連抗原をモチーフに CTL 誘導を目指したショートペプチド (9 個程度のペプチド) のみでなく、ロングペプチド (30 ~ 40 個) やオーバーラッピングペプチド、さらにショートペプチドを 10 種類以上用いるペプチドカクテルなどの試みがなされ、すでに第 III 相試験に至っている研究も多い。これらの一連の研究を系統立てて解説するのは難しいので、拙著を含めた最近の総説¹⁴⁻¹⁶⁾ を参考にされたい。以下、消化器関連で進行中の臨床研究を癌腫別に紹介する。

6) Douillard JY, Siena S, Cassidy J et al : Randomized, phase III trial of panitumumab with infusional fluorouracil, leucovorin, and oxaliplatin (FOLFOX4) versus FOLFOX4 alone as first-line treatment in patients with previously untreated metastatic colorectal cancer : the PRIME study. *J Clin Oncol* 28 : 4697-4705, 2010

7) Hurwitz H, Fehrenbacher L, Novotny W et al : Bevacizumab plus irinotecan, fluorouracil, and leucovorin for metastatic colorectal cancer. *N Engl J Med* 350 : 2335-2342, 2004

8) Giantonio BJ, Catalano PJ, Meropol NJ et al : Bevacizumab in combination with oxaliplatin, fluorouracil, and leucovorin (FOLFOX4) for previously treated metastatic colorectal cancer : results from the Eastern Cooperative Oncology Group Study E3200. *J Clin Oncol* 25 : 1539-1544, 2007

9) Itoh K, Yamada A : Personalized peptide vaccines : a new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* 97 : 970-976, 2006

10) Itoh K, Yamada A, Mine T et al : Recent advances in cancer vaccines : an overview *Jpn J Clin Oncol* 39 : 73-80, 2009

11) 中村祐輔 編 : がんペプチドワクチン療法. 中山書店, 2009

12) 中村祐輔 : ゲノム解析による新しい腫瘍抗原の同定. *Mebio* 27 : 36-42, 2010

13) Sugiyama H : WT1 (Wilms' tumor gene 1) : biology and cancer immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 40 : 377-387, 2010

14) 奥野清隆 : 海外で臨床試験の進んでいるペプチドワクチン療法. *Mebio* 27 : 43-48, 2010

15) Aurisicchio L, Ciliberto G : Patented cancer vaccines : the promising leads. *Expert Opin Ther Pat* 20 : 647-660, 2010

16) Perez SA, von Hofe E, Kallinteris NL et al : A new era in anticancer peptide vaccines. *Cancer* 116 : 2071-2080, 2010

食道癌

1. 新規 oncoantigen (URLC10, KOC1, TTK) ペプチド

Kono ら¹⁷⁾ は、標準療法不応の進行食道癌に対する第 I 相試験において安全性に問題なく、ペプチド抗原特異的 T 細胞応答がほとんどの症例で誘導されたことを基に、多施設共同第 II 相試験 (STF 試験) を行った。60 例において 3 種のペプチドワクチンを投与し、HLA キーオープンという手法 (このワクチンに結合する HLA-A24 陽性患者は、本邦では 60% 存在するので理論上 6 : 4 に振り分けられる) で解析したところ、A-24 陽性群で無増悪生存期間が有意に優れ、さらに全生存期間では 3 種のペプチドすべてに反応のみられた群の生存期間が最も良好で、2 種類、1 種類と続き、反応のない群の生存期間が最も不良であった。現在はその再現性を調べるために同サイズの第 II 相試験 (STF-II) を実施中であり、並行して治験開始を検討している。

2. NY-ESO-1

NY-ESO-1 は従来より免疫原性の高い癌抗原として知られ、総蛋白を用いたワクチン療法が検討された。最近ではクラス I, II エピトープをそれぞれ刺激する長鎖ペプチドやオーバーラッピングペプチドの臨床応用が試みられている。後にも触れるが、このアプローチは CTL エピトープのみでなくヘルパー T 細胞エピトープも刺激して効率的な抗腫瘍免疫応答を誘導しようというものである¹⁸⁾。

胃癌

■腫瘍新生血管因子レセプター (VEGFR) エピトープペプチド + TS1/CDDP

切除不能進行・再発胃癌に対して TS-1/CDDP の標準的レジメンに VEGFR エピトープペプチド皮下注射を併用する第 I 相試験が大阪大学を中心に実施されている。ランダム化試験でないため臨床評価は難しいが historical control に比べると全生存期間、無再発生存期間ともに延長がみられており、今後の展開が期待されている。

肝癌

1. glypican-3 (GPC3)

Nakatsura, Nakamura らは cDNA アレイ解析から肝癌に特異的に高い発現を示す遺伝子 GPC3 を同定し¹⁹⁾、標準療法抵抗性の原発性肝癌で HLA-A24 または -A2 陽性患者を対象に第 I/II 相試験を展開している。26 例の検討では投与局所の発赤、硬結程度で安全性に問題なく、全例に末梢血中 GPC3 特異的 CTL が検出され、約 60% に腫瘍マーカー (PIVKA-II) の低下、画像上 SD が認められた²⁰⁾。

17) Kono K, Mizukami Y, Daigo Y et al : Vaccination with multiple peptides derived from novel cancer-testis antigens can induce specific T-cell responses and clinical responses in advanced esophageal cancer. *Cancer Sci* 100 : 1502-1509, 2009

18) Mizote Y, Taniguchi T, Tanaka K et al : Three novel NY-ESO-1 epitopes bound to DRB1*0803, DQB1*0401 and DRB1*0901 recognized by CD4 T cells from CHP-NY-ESO-1-vaccinated patients. *Vaccine* 28 : 5338-5346, 2010

19) Nakatsura T, Komori H, Kubo T et al : Mouse homologue of a novel human oncofetal antigen, glypican-3, evokes T-cell-mediated tumor rejection without autoimmune reactions in mice. *Clin Cancer Res* 10 : 8630-8640, 2004

20) 中面哲也 : 国内で臨床試験の行なわれているペプチドワクチン療法 GPC 3. *Mebio* 27 : 49-55, 2010

2. WDRPUH, FOXM1, MELK, HJURP

同様に、cDNA アレイ法で肝癌に発現の高い (60 ~ 100%) 新規癌抗原遺伝子 4 種の組合せで、近畿大学において 2010 年より第 I 相試験が開始されたばかりである。

膵 癌

1. 腫瘍新生血管因子レセプター (VEGFR2) エピトープペプチド + GEM

Yamaue らは、切除不能ならびに再発膵癌に対して腫瘍新生血管 VEGFR2 のエピトープペプチドと Gemcitabine (GM) 併用による第 I 相試験を実施したところ、重篤な有害事象がなく、ペプチド反応性 CTL 反応と臨床効果がみられた²¹⁾。そこで、全国 27 施設による多施設共同第 II/III 相試験 (PEGASUS-PC study) を計画し、2010 年 1 月には 153 例の登録が完了した。2010 年 11 月の中間解析では「試験継続」の指示が得られたことから、最終的な解析結果が期待されている。

2. GV-1001 (テロメラーゼ逆転写酵素由来ペプチド)

ヒトテロメラーゼ逆転写酵素 (hTERT) の第 611 ~ 626 番目のアミノ酸配列よりなる 16-mer の class II ペプチドワクチンで、膵癌に対して欧米を中心に第 III 相試験が展開されている²²⁾。

大腸癌

1. 新規 oncoantigen (RNF43, TOMM34) ペプチド + UFT/LV

Okuno らは標準療法抵抗性の再発・進行大腸癌に対して、Nakamura らの cDNA アレイ法で同定された大腸癌に発現の高い遺伝子 RNA 43, TOMM 34 由来ペプチドと経口抗癌剤 UFT/LV を併用する第 I 相試験を行い、安全性と臨床効果を検討した²³⁾。その結果、2 種のペプチドいずれにも CTL 反応のみられた群の全生存期間 (MST) は実に 36.1 ヶ月に達し、次いでいずれか 1 種に CTL 反応のみられた群 (MST: 12.7 ヶ月)、いずれにも CTL 反応が得られなかった群 (9.5 ヶ月) となり、免疫応答能と生存期間に相関性が認められた。この結果を基に、多施設共同の探索的 I/II 相試験を現在計画中である。

2. IMA-910 (13 種類のペプチドカクテル)

Immatics biotechnologies 社は、進行再発大腸癌に対して 13 種類の大腸癌関連ペプチドカクテル (内訳は 10 種のクラス I 拘束性ペプチドと 3 種のクラス II 拘束性ペプチド) による第 II 相試験を欧州 (EU) で展開中である。

多癌種共有

1. テーラーメイド型ワクチン

Itoh ら^{9,10)} は、扁平上皮癌や腺癌において新たに同定した癌関連抗原を中心

21) Miyazawa M, Ohsawa R, Tsunoda T et al : Phase I clinical trial using peptide vaccine for human vascular endothelial growth factor receptor 2 in combination with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Sci* 101 : 433-439, 2009

22) Shaw VE, Naisbitt DJ, Costello E et al : Current status of GV1001 and other telomerase vaccination strategies in the treatment of cancer. *Expert Rev Vaccines* 9 : 1007-1016, 2010

23) Okuno K, Sugiura F, Hida J et al : Phase I clinical trial of a novel peptide vaccine in combination with UFT/LV for metastatic colorectal cancer. *Exp Ther Med* 2 : 73-79, 2011

にヒト癌関連抗原で HLA-A24HLA-A2 結合性のペプチドワクチン 40 種類あまりを保持している。そこで癌患者末梢血リンパ球を採取してその反応性の高いペプチドを 3~4 種類選んでワクチン投与する手法 (personalized vaccination) を開発した。多数の消化器癌 (食道癌, 胃癌, 大腸癌) や泌尿器癌 (前立腺癌, 腎癌, 膀胱癌) に投与し, CTL を中心とした CD8 陽性 T 細胞反応ばかりでなく, ペプチド特異的抗体反応, 換言すれば CD4 陽性 T 細胞反応が誘導される場合に臨床効果がみられることが多く, 生存期間延長にも寄与することが報告されている。

2. WT-1

本来, 腎癌の原因遺伝子として単離されたが, その後 WT1 蛋白はほとんどの固形癌に発現する汎腫瘍抗原であることが報告され, 種々の固形癌の免疫治療に応用されている。NCI が行った癌抗原 75 種類における 9 項目の評価 (腫瘍原性, 免疫原性, 発現性等) では最も高いスコアを与えられた²⁴⁾。本邦では杉山ら²⁵⁾を中心に, HLA-A24 結合性の WT1 ペプチドを用いて第 I 相試験が展開されており, 消化器癌でも多くの症例で検討がされている。

3. H/K-HELP (helper/killer hybrid epitope long peptide)

Nishimura らは, 癌の退縮にはヘルパー T 細胞の誘導, 動員が必須であるという研究結果に基づいて, ヒトの免疫療法にもヘルパー T 細胞誘導を積極的に導く治療ストラテジーを展開している²⁶⁾。彼らは, 腫瘍抗原には Survivin, MAGE-A4 を用いて HLA-class II に結合する 20~30 個のペプチドに加えてキラーエピトープも結合させた計 40 個程度のロングペプチドを設計し, 標準療法抵抗性の進行再発癌 (消化器癌, 頭頸部癌, 乳癌など) に対する第 I 相試験を開始している。切除標本から Survivin あるいは MAGE-A4 の発現を蛋白レベル, RNA レベルで検討し, それらが陽性で, かつこれらのヘルパーペプチドが結合しうる HLA-class II タイプであることが必須であるため適格条件は厳しいが, これらが適合すれば対応する癌腫は広い。現在は第 I 相試験が終了し, 安全性が確認された段階である。

24) Cheever MA, Allison JP, Ferris AS et al : The prioritization of cancer antigens : a national cancer institute pilot project for the acceleration of translational research. Clin Cancer Res 15 : 5323-5337, 2009

25) 杉山治夫 : WT1 ペプチドを用いたがん免疫療法. Mebio 27 : 56-64, 2010

26) Ohkuri T, Wakita D, Chamoto K et al : Identification of novel helper epitopes of MAGE-A4 tumour antigen : useful tool for the propagation of Th1 cells. Br J Cancer 100 : 1135-1143, 2009

Case Report

First clinical trial of cancer vaccine therapy with artificially synthesized helper/killer-hybrid epitope long peptide of MAGE-A4 cancer antigen

Norihiro Takahashi,^{1,6} Takayuki Ohkuri,^{2,6} Shigenori Homma,¹ Junya Ohtake,² Daiko Wakita,² Yuji Togashi,³ Hidemitsu Kitamura,² Satoru Todo^{1,4} and Takashi Nishimura^{2,5}¹First Department of Surgery, Hokkaido University School of Medicine, Sapporo; ²Division of Immunoregulation, Section of Disease Control, Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, Sapporo; ³BioImmulance Co, Ltd, Sapporo; ⁴Department of Organ Transplantation, Hokkaido University Graduate School of Medicine, Sapporo, Japan

(Received August 31, 2011/Revised September 12, 2011/Accepted September 15, 2011)

A patient with pulmonary metastasis of colon cancer was treated with artificially synthesized helper/killer-hybrid epitope long peptide (H/K-HELP) of MAGE-A4 cancer antigen. The patient was vaccinated with MAGE-A4-H/K-HELP combined with OK432 and Montanide ISA-51. There were no severe side-effects except for a skin reaction at the injection site. MAGE-A4-H/K-HELP induced MAGE-A4-specific Th1 and Tc1 immune responses and the production of MAGE-A4-specific complement-fixing IgG antibodies. Tumor growth and carcinoembryonic antigen tumor marker were significantly decreased in the final diagnosis. This is the first report that artificially synthesized MAGE-A4-H/K-HELP induces Th1-dependent cellular and humoral immune responses in a human cancer patient. (*Cancer Sci* 2012; 103: 150–153)

Case report

First clinical findings in one patient treated with an artificially synthesized MAGE-A4-helper/killer-hybrid epitope long peptide (H/K-HELP) cancer vaccine.

A 62-year-old Japanese man had a history of pulmonary metastasis and resected colon cancer without active infections (human immunodeficiency virus [HIV], hepatitis B virus [HBV] and hepatitis C virus [HCV]), severe heart diseases (New York Heart Association class 3 or 4) and autoimmune diseases (scleroderma, Sjogren's syndrome, idiopathic thrombocytopenic purpura, multiple sclerosis and rheumatoid arthritis). The patient was enrolled in this trial and confirmed MAGE-A4 antigen expression and human leukocyte antigen (HLA)-phenotypes (HLA-A*310102, A*330301, and DRB1*150101).

The pulmonary metastatic colon cancer of the patient was shown to express MAGE-A4 cancer antigen by both immunohistological analysis and real-time PCR (Fig. 1a–e). MAGE-A4-H/K-HELP was artificially synthesized by conjugating MAGE-A4_{278–299} helper epitope with MAGE-A4_{143–154} killer epitope by a glycine linker (Fig. 1f). In a phase I study, the enrolled patients were treated with subcutaneous injection of MAGE-A4-H/K-HELP (1 or 10 mg) combined with OK432 and Montanide ISA-51 four times at 2-week intervals (Fig. 1g). In the present case, the patient was first treated with 1 mg MAGE-A4-H/K-HELP four times at 2-week intervals and thereafter treated with 10 mg dose-escalated MAGE-A4-H/K-HELP six times. Physical and hematological examinations were monitored before and after vaccination with MAGE-A4 H/K-HELP. As a result, it was confirmed that there were no severe side-effects, although a skin reaction

occurred at the injection site (Grade 2 reaction, Common Terminology Criteria for Adverse Events [CTCAE] v4.0 criteria). The isolated CD4⁺ T cells from the patient's PBMC did not produce significant levels of interferon (IFN)- γ by stimulation with H/K-HELP in the presence of antigen presenting cells (APC) before vaccination. However, the levels of IFN- γ production by CD4⁺ T cells greatly increased in the patient after vaccination with 1 mg MAGE-A4-H/K-HELP (Fig. 2a), and the levels of Th1 response increased approximately 10 times after vaccination with 10 mg MAGE-A4-H/K-HELP (data not shown). The numbers of CD8⁺ Tc1 cells detected by IFN- γ -enzyme-linked immunosorbent spot (ELISPOT) assay also increased in the patient's PBMC after 1 mg MAGE-A4-H/K-HELP vaccination (Fig. 2b), and the increased Tc1 response was also observed after 10 mg vaccination (data not shown). We determined that the epitope recognized by CD4⁺ T cells was exactly our identified helper epitope (MAGE-A4_{278–299}) in H/K-HELP, while the CD8⁺ T cells recognized an unknown new killer epitope in a part of the helper epitope sequence of H/K-HELP (data not shown). Thus, MAGE-A4-H/K-HELP induced both Th1 and Tc1 responses in the patient irrespective of the patient expressing HLA DR1501 bound to MAGE-A4_{278–299} helper epitope but not HLA A24 bound to MAGE-A4_{143–154} killer epitope in MAGE-A4-H/K-HELP. Moreover, our vaccine protocol with MAGE-A4-H/K-HELP mainly induced MAGE-A4-peptide-specific IgG3 antibody (Ab) and slightly induced IgG1 Ab, both of which are Th1-dependent complement-fixing Ab (Fig. 2c,d). The levels of MAGE-A4-specific IgM also slightly but significantly increased at an early stage of the 1 mg vaccination, but the levels did not change after the 10 mg vaccination. In contrast to IgM, the levels of MAGE-A4-peptide-specific IgG3 and IgG1 Ab greatly increased after the 10 mg vaccination (Fig. 2d). However, no increase in IgG2 and IgG4 was observed after vaccination with H/K-HELP. We demonstrated that MAGE-A4-specific IgG Ab recognized MAGE-A4_{143–154} killer epitope in H/K-HELP (data not shown). Thus, it was demonstrated that the MAGE-A4_{278–299} helper epitope exactly

⁵To whom correspondence should be addressed.

E-mail: tak24@igm.hokudai.ac.jp

⁶These two authors contributed equally to this work.

This study was approved by the Institutional Review Boards of Hokkaido University School of Medicine and Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University (Hokkaido, Japan) and registered at UMIN Clinical Trials Registry (<http://www.umin.ac.jp/ctr/index-j.htm>) as UMIN000003489 (Cancer vaccine study with MAGE-A4/Survivin helper peptide). Informed consent for publication was obtained from the patient.