

A CASE REPORT OF INVASIVE CRIBRIFORM CARCINOMA OF THE BREAST

Takeshi AIYAMA¹⁾, Hiromi FUJITA²⁾, Mitsuchika HOSODA¹⁾,
Kazunori TAGUCHI¹⁾, Hiromasa TAKAHASHI¹⁾ and Satoru TODO¹⁾
Department of General Surgery, Hokkaido University Graduate School of Medicine¹⁾
Division of Pathology, Hokkaido University Hospital²⁾

Invasive cribriform carcinoma (ICC) is a histological type of breast cancer, first reported by Page et al in 1983. They classified this breast cancer into classical and mixed types, but now a pure type has been added to World Health Organization (WHO) Classification of breast cancer. Herein, we report a case of ICC who had felt a lump in her right breast 10 years prior to resection. The patient was a 71-year-old woman. She had been aware of a lump in her left breast since 2000, but did not go to a hospital. From January 2010, she felt the lump enlarging, and she visited our department in April. Aspiration biopsy cytology showed the lump to possibly be malignant. As she refused further examination, modified radical mastectomy and left axillary node dissection were performed. The histopathological diagnosis was ICC (pure type), 30mm tumor, WHO grade 1, Iy(-), v(-), ER(+), PgR(+), HER2(1+), n0, pT2pN0M0, pStage IIA. In foreign countries, the incidence of ICC is reportedly 0.3 to 4.9% of all breast cancers, but there are few reports of this tumor in Japan. The prognosis of ICC patients is reported to be excellent, because the 5- and 10- year survival rates are 100% and 91%, respectively. Moreover, reported positive rates for ICC estrogen receptors and progesterone receptors are 100% and 69%, respectively, and the HER2 positive rate of ICC is 0%. We consider these factors to possibly contribute to the excellent prognosis of ICC patients.

Key words : invasive cribriform carcinoma, breast cancer, pure type

VIII. 大腸癌の治療戦略

遺伝子療法・免疫療法

大腸癌のペプチドワクチン療法

Peptide vaccine treatment for colorectal cancer

奥野清隆

Key words : ペプチドワクチン, 免疫化学療法, 大腸癌

はじめに

ヒト癌において初めてがん拒絶抗原が証明されたのはメラノーマにおける Boon¹⁾の MAGE 抗原であり, その報告から現在までわずか 20 年程度が経過したにすぎない。しかし, この間, 同様の手法を用いて腺癌, 扁平上皮癌をはじめ多数の癌関連抗原が同定された。更に近年では cDNA マイクロアレイの網羅的遺伝子解析から癌に特異的に高発現する遺伝子が同定され, それらからクラス I 抗原に結合してキラー T 細胞を誘導するペプチドが選定され, 各種の癌において臨床研究が盛んに行われている。代表的な日本の研究者たちがこの領域における牽引的役割を果たしているが, 本稿では彼らとの共同研究を行ってきた進行・再発大腸癌患者に対するがんペプチドワクチン療法の成績を紹介し, 本療法の現状と今後の展望を解説する。

1. 大腸癌の免疫学的特徴

大腸癌は成長速度が比較的緩徐 (slow-growing tumor) で, 遠隔転移 (肝, 肺転移) がなければ手術単独でも 70% 以上の 5 年生存率が得られる。間質反応 (リンパ球, マクロファージの浸潤) が強く, これらの浸潤程度が予後と相関する, という研究結果が Jass の報告²⁾以来, 数多くみられる (表 1)。なかでも Naito³⁾は T 細胞浸潤

部位を癌巣辺縁 (margin), 癌間質内 (stroma), 癌細胞上皮内 (cancer cell nests) に細分類したところ, 癌細胞上皮内に浸潤した CD8 陽性 T 細胞が予後良好な因子であることを報告した。

また欧米ではミスマッチ修復遺伝子の異常による遺伝性非ポリポーシス大腸癌 (hereditary nonpolyposis colorectal cancer: HNPCC) に代表される MSI (microsatellite instability) 陽性大腸癌が全体の 15% を占めるとされ, これらは比較的低下分化腺癌が多く, 癌が多発することが多いが, その予後は意外と良好であり, その理由として MSI によって生じた遺伝子変異が免疫原性を発揮して周囲に T リンパ球浸潤を誘導するため⁴⁾と考えられている。

また, Rosenberg⁵⁾が 1980 年代から多種類の進行癌患者に大規模に行った LAK (lymphokine-activated killer) 細胞とインターロイキン-2 (interleukin-2: IL-2) による受動免疫療法の成績をみてもほとんどの固形癌における奏効率が 0-数% 程度の中で大腸癌は 17% 程度の奏効率があり, リンパ腫やメラノーマほどではないにせよ固形癌の中では腎癌とともに免疫療法に奏効する癌種と考えられた。したがって高度進行・再発大腸癌の治療に免疫療法のアームを取り入れることは理論的にも支持されると考えられる。

Kiyotaka Okuno: Department of Surgery, Kinki University Faculty of Medicine 近畿大学医学部 外科学

表1 大腸癌における腫瘍浸潤リンパ球(tumor-infiltrating lymphocytes: TIL)と生存期間の関連
(Shunyakov L. et al: Clin Colorectal Cancer 4: 38-45, 2004, より改変)

研究者	症例数	TILの浸潤部位	無増悪生存期間	全生存期間	追跡期間
Roncucci(1996)	397	辺縁	NR	直腸癌: 62% vs 36% 結腸癌: 61% vs 54%	5年
Ropponen(1997)	195	辺縁, 間質	HR, 0.72(p<0.05)	HR, 0.55(p<0.05)	14年
Naito(1998)	131	辺縁	NR	HR, 0.91(p=NS)	5年
		間質	NR	HR, 0.81(p=NS)	
		癌細胞上皮内(CD8+)	NR	HR, 0.54(p<0.05)	
Nielsen(1999)	584	辺縁	NR	HR, 0.66(p=0.03)	5年
Guidoboni(2001)	109*	癌細胞上皮内(CD8+)	NR	HR, 0.33(p<0.05)	6.5年
Nanni(2002)	263	間質	65% vs 58% (p=0.2)	81% vs 72% (p=0.09)	4年
Menon(2003)	84	間質	p=0.92	NR	10年
		癌細胞上皮内	85% vs 64% (p<0.05)		
Funada(2003)	97	間質(CD8+)	NR	92% vs 72% (p<0.05)	5年

NR: not reported(記載なし), HR: hazard ratio(ハザード比), NS: not significant(有意差なし).

*うち43%はMSI陽性大腸癌.

2. がんペプチドワクチンによる免疫療法

a. テーラーメイド型ワクチン

伊東恭悟教授(久留米大)はBoonらと同じcDNA発現クローニング法を用いて(メラノーマではなく)我が国に患者の多い腺癌や扁平上皮癌に発現するがん関連抗原を数多く同定した。それらから我が国に多いHLAタイプであるHLA-A24(日本人の約60%が該当)やHLA-A02(同じく約20%)に結合し, キラーT細胞を誘導できるペプチド(9-mer)を同定し, それらの臨床効果を検証しようと試みた。

多くの進行・再発癌に投与したがペプチド特異的なT細胞反応がみられても多くは癌の進行を抑えられず, 臨床効果としては乏しいものであった。そこであらかじめ患者末梢血リンパ球を採取し, 彼らが有する40種類程度のがんペプチドの免疫応答性をスクリーニングして応答性の高い3-4種を選定したうえで患者に投与する個別化ワクチン(personalized vaccination)⁶⁾を考案した。患者の免疫能に合わせたワクチン療法なのでテーラーメイド型ワクチンとも呼ばれる。こうすれば直ちに強い免疫応答が得られ, 従来型ワクチンでの免疫誘導にかかるタイムラグがなくなる利点がある。更に彼らは臨床効果

増強のために化学療法との併用も検討した。

一般的に化学療法は免疫反応を抑制すると考えられ, 事実, 多くの化学療法剤は骨髄抑制作用を有し, 顆粒球減少, リンパ球減少をきたしやすいが, 用法, 用量によってはこのような有害事象がみられないことがある。更に化学療法剤の併用によって, ①癌患者の担癌量が減少する, ②キラーT細胞のdeath signalに対する腫瘍抵抗性を低下させる(がん細胞が殺されやすくなる), ③担癌状態で出現する制御性T細胞(Treg)を減少させる, という相乗的な効果も報告⁷⁾されている。したがって組み合わせる化学療法剤の種類, 投与方法を慎重に検討すれば化学療法併用は臨床効果の増強を期待できる。

このような見地から著者らは伊東教授らと共同研究で, 手術不能, 化学療法抵抗性の進行・再発大腸癌患者に対するUFT/LV(UZEL[®])経口抗がん剤とテーラーメイド型がんワクチン療法を検討した。UFT/LVは静注5-FU/LVとの同等性が証明され, 広く世界で大腸癌の標準的化学療法と認められているが, 顆粒球減少, リンパ球減少の有害事象は少なく免疫療法との併用に適していると判断したからである。登録された14例のうち臨床効果の評価が行えた13例では6例がSD(うち3例がMR), 7例がPDで, 無

増悪生存期間 (progression-free survival: PFS) は10.7週(範囲: 5.0-51週)であったが, 3年以上の長期生存がみられ, 興味あることにペプチドワクチン投与による抗原特異的T細胞反応やIgG反応の強い患者に長期生存期間が認められた⁹⁾.

b. 大腸癌関連ペプチドワクチン

中村祐輔教授(東大医科研, 国立がんセンター研究所)らはcDNAマイクロアレイの手法を用いて網羅的遺伝子解析を行い, 癌に特異的に高発現し, 更に細胞増殖に重要な役割を果たしていると考えられる遺伝子を多数同定した. それらからキラーT細胞(CTL)の標的となるようなHLAクラスI, これも前項で述べたように日本人に多く存在するHLA-A2402に結合しうるペプチドを探索し, 新規がん抗原(オンコアンチゲン)を同定した.

大腸癌を例にあげればRNF43(ring finger protein 43)⁹⁾, TOMM34(34 kDa-translocase of the outer mitochondrial membrane)¹⁰⁾などであり, 彼らの解析では大腸癌サンプルならびに大腸癌細胞株の約80-90%に発現がみられるが正常組織は精巣を除いてほとんど発現がないことが確認された. これらはがん免疫療法の理想的な抗原であり, 誘導されたCTLは大腸癌細胞を特異的に傷害するが正常組織は傷害しない(精巣では抗原は発現するがクラスI抗原の発現がないためCTLの攻撃は免れる).

著者らは彼らとの共同研究で標準療法抵抗性となった進行・再発大腸癌のうちHLA-A24陽性患者を対象にRNF43, TOMM34の2種類のペプチドと経口抗がん剤UFT/LVを併用するがんペプチド免疫化学療法を行った. 施行された21例のうち, プロトコルの規定投与に達しなかった2例を除くとSD 16例, PD 3例であり, 無増悪生存期間(progression-free survival: PFS)の中央値は7.2カ月, 全生存期間(overall survival: OS)の中央値は24.4カ月という結果であった.

第I相のシングルアームであるため, 評価は難しいがほとんどが通常の化学療法(一次, 二次)に抵抗性となった対象症例であることを

考えれば, 大規模な化学療法比較試験であるE3200試験¹¹⁾のPFS中央値(FOLFOX4: 4.5カ月 vs FOLFOX4+bevacizumab: 7.5カ月), OS中央値(FOLFOX4: 10.8カ月 vs FOLFOX4+bevacizumab: 13.0カ月)と比較して遜色のない成績と考えられる.

更に興味深いのはこの21例のうち, RNF43, TOMM34のCTL誘導能との関連であった. すなわちいずれの抗原に対してもCTLが誘導された群ではそうでなかった群に比べて生存期間が延長する傾向があり, 特に双方にCTLが誘導された群はどちらか一方に誘導された群, あるいは全くCTLが誘導されなかった群に比較して有意に生存期間が延長していた¹²⁾(図1). 双方にCTLが誘導された群の平均生存期間は3年(36.1カ月)に達しており, 今後更に大規模な試験で検証する価値があると考えられた.

著者らの施設では2種類の大腸癌関連ペプチドワクチンを用いたが, 裕ら(山口大)は同様に進行・再発大腸癌患者に上記のRNF43, TOMM34に加えてKOC1, 更に腫瘍新生血管を傷害するために血管内皮細胞受容体(VEGFR1, VEGFR2)ペプチドを加えた5種類のペプチドカクテルとFOLFOXを併用する免疫化学療法を行ったところ, 17例に対してPR 10例, SD 7例, PDは0例という成績であったという(personal communication).

3. 今後の展望

a. 術後補助療法への応用

がんペプチドワクチン療法の第I相試験では接種局所の皮膚発赤, 硬結以外には強い有害事象もなく, すべて安全に投与できている. また臨床効果も症例数, 観察期間は短いもののペプチド特異的CTL反応と生存期間には相関が認められた. しかし, RECIST基準を満たす病巣の縮小(CR, PR)例はほとんどみられず, 最大の理由は過大な担癌量だと考えられる. 現実的にはペプチドワクチンが最も威力を発揮できるのは再発予防と考えられ, 現在Stage III大腸癌を対象に術後にペプチドワクチン+UFT/LVを投与するランダム化比較試験を開始している.

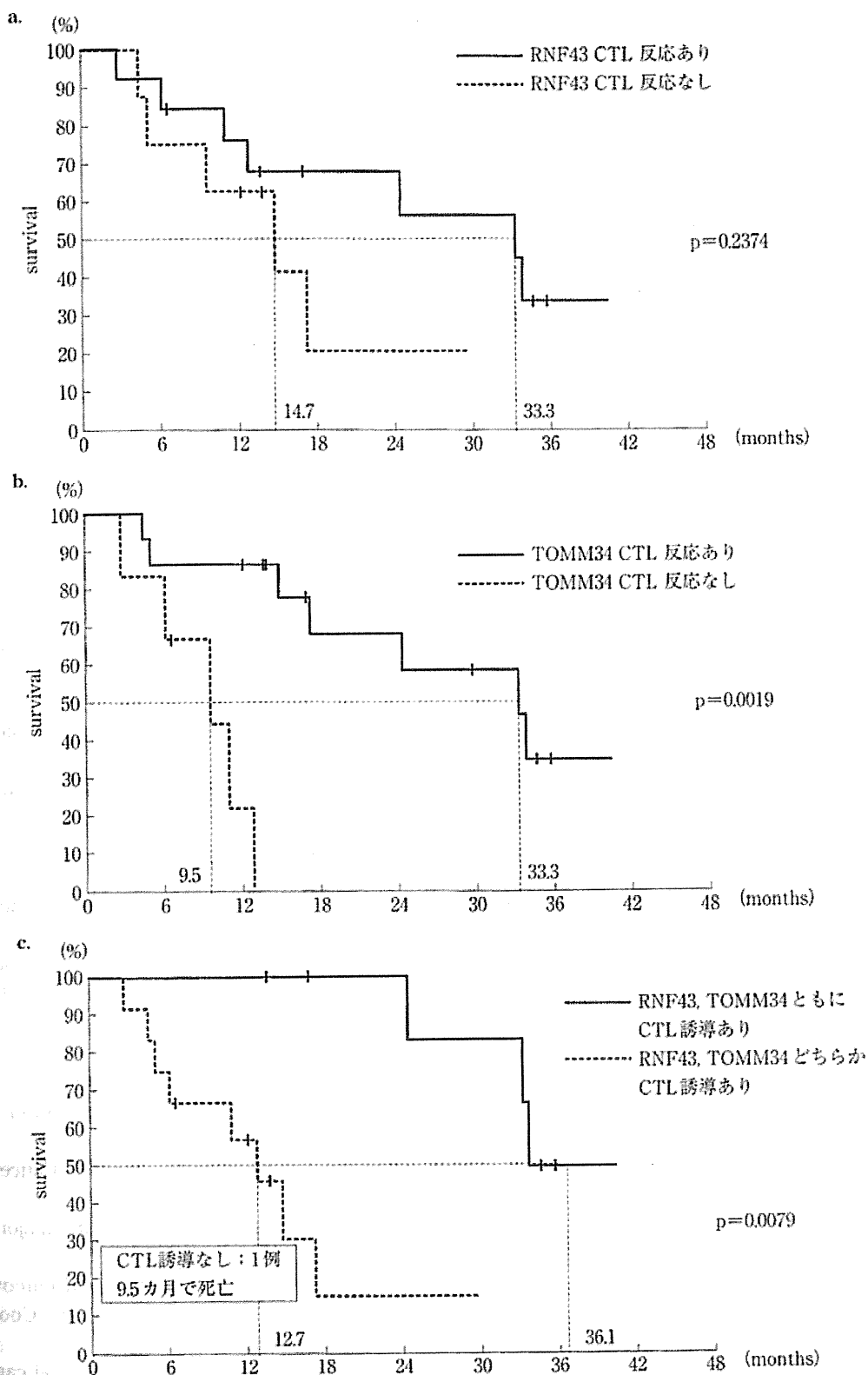


図1 ペプチドワクチンのキラーT細胞(CTL)反応性と全生存期間(OS)

再発大腸癌21例のうちRNF43, TOMM34ともにCTL反応あり(8例), RNF43のみCTL反応あり(5例), TOMM34のみCTL反応あり(7例), いずれにもCTL反応なし(1例).

a. RNF43に対するCTL反応性と生存期間(OS), b. TOMM34に対するCTL反応性と生存期間(OS), c. RNF43, TOMM34に対するCTL反応性と生存期間(OS)

b. ペプチドカクテル, ヘルパーキラー
ハイブリッドペプチドなどの試み

進行・再発大腸癌の治療において2種類のペプチドワクチンでは効果が限られるとすれば当然, より多くの組み合わせによる効果が期待される。著者らも今後は血管内皮細胞受容体(VEGFR1, VEGFR2)ペプチドを組み合わせた4種類のワクチン治療を検討中である。欧米では13種類の大腸癌関連ペプチドを組み合わせたペプチドカクテルによる第II相試験が実施されている(IMA-910: immatics biotechnologies)。またキラーT細胞のみでなくヘルパーT細胞活性の増強をも目論んだハイブリッドペプチド(helper/killer hybrid epitope long peptide)やオーバーラッピングペプチド(overlapping pep-

tides)などロングペプチド(30~40-mer)の臨床応用も開始され, 今後の展開が大いに期待される領域である。

おわりに

がんペプチドワクチン療法の臨床研究はまだ端緒についたばかりで科学的評価ができるほど十分な症例数, 比較試験がなされているわけではない。その見地からは本法を評価するのは時期尚早であるが, 大腸癌を例にとっても本稿のように興味深い結果が得られつつある。近い将来, がんペプチドワクチンの科学的評価がなされて臨床現場に新規治療剤として登場することを信じて擲筆する。

■ 文 献

- 1) Boon T: Tumor antigens recognized by cytolytic T lymphocytes: Present perspectives for specific immunotherapy. *Int J Cancer* 54: 177-180, 1993.
- 2) Jass J: Lymphocytic infiltration and survival in rectal cancer. *J Clin Pathol* 39: 585-589, 1986.
- 3) Naito Y, et al: CD8+ T cells infiltrated within cancer cell nests as a prognostic factor in human colorectal cancer. *Cancer Res* 58: 3491-3494, 1998.
- 4) Saeterdal I, et al: Frameshift-mutation-derived peptides as tumor-specific antigens in inherited and spontaneous colorectal cancer. *Proc Natl Acad Sci USA* 98: 13255-13260, 2001.
- 5) Rosenberg SA: Adoptive cellular therapy: clinical applications. In: *Biologic Therapy of Cancer*(ed by DeVita VT, et al), p214-236, JB Lippincott, Philadelphia, 1991.
- 6) Itoh K, Yamada A: Personalized peptide vaccines: a new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* 97: 970-976, 2006.
- 7) Correale P, et al: Chemo-immunotherapy of metastatic colorectal carcinoma with gemcitabine plus FOLFOX 4 followed by subcutaneous granulocyte macrophage colony-stimulating factor and interleukin-2 induces strong immunologic and antitumor activity in metastatic colon cancer patients. *J Clin Oncol* 23: 8950-8958, 2005.
- 8) Hattori T, et al: Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with UFT and UZEL for metastatic colorectal carcinoma patients. *Cancer Immunol Immunother* 58: 1845-1854, 2009.
- 9) Uchida N, et al: Ring finger protein 43 as a new target for cancer immunotherapy. *Clin Cancer Res* 10: 8577-8586, 2004.
- 10) Shimokawa T, et al: Identification of TOMM34, which shows elevated expression in the majority of human colon cancers, as a novel drug target. *Int J Oncol* 29: 381-386, 2006.
- 11) Giantonio BJ, 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* 20: 1539-1544, 2007.
- 12) Okuno K, et al: Recent advances in active specific cancer vaccine treatment for colorectal cancer. *Curr Pharm Biotechnol* 12(2): 2011. (in press)

総説

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—

近畿大学医学部・外科

奥野 清隆

要旨 米国 FDA (食品医薬品局) が、がん治療用ワクチンを初めて承認したことで、長い間待ち望まれていたがん特異的な免疫療法がようやく現実化した。しかしながらがん免疫療法の研究者たちには、今後も治療用ワクチンにおける適切なサロゲートエンドポイントの検討や研究デザインの確立など解決すべき問題が多く残されている。第23回日本バイオセラピー学会 (2010年、大阪) ではわが国におけるがんワクチンの承認をめざして、アカデミア、規制当局 (PMDA)、製薬企業から4名の専門家による討論会がもたれた。この総説では、そこで討論された内容、すなわちわが国におけるがんワクチン療法の現状と薬事承認に至るまでに克服すべき課題についてまとめてみる。

[Biotherapy 25 (6) : 845-850, November, 2011]

Overcoming Barriers of Cancer Vaccine Therapy in Japan

Kiyotaka Okuno

*Department of Surgery, Kinki University Faculty of Medicine***Summary**

With the recent approval by the U. S. Food and Drug Administration of the first therapeutic vaccine for cancer, the long-awaited goal of cancer-specific immunotherapy has finally been realized. However, as researchers in the field of cancer immunotherapy continue to perform definitive randomized studies, much remains to be learned about potential surrogate endpoints and appropriate study designs for therapeutic vaccines. At the 23rd Annual Meeting of Japan Society for Biological Therapy, Osaka 2010, 4 experts from academia, regulatory bodies (PMDA), and the pharmaceutical industry discussed topics surrounding approval of cancer vaccine therapy in Japan. The present report summarizes the topics of the symposium, namely the current status of cancer vaccine development in Japan, and discuss overcoming barriers in the development of cancer vaccine therapy.

Key words: Cancer vaccine, Cancer immunotherapy, Academia, PMDA, Pharmaceutical industry

Address request for reprints to: Dr. Kiyotaka Okuno, Department of Surgery, Kinki University Faculty of Medicine, 377-2 Ohno-higashi, Osaka-sayama, Osaka 589-8511, Japan

はじめに

2010年4月、米国FDA（食品医薬品局）は進行前立腺癌に対する免疫細胞製剤 Provenge® を承認した。従来の抗がん剤とはまったく異なる作用機序であるため、これに先立ちFDAは2009年がん治療用ワクチン療法ガイダンス（draft版）を公表し、広く意見を求めるとともに新しい免疫製剤の効果判定基準を模索している。このような活発な米国の動向にも刺激され、本邦でもがんペプチドワクチンに関するわが国での効果判定基準について動きが加速している。2010年12月、大阪で開催された第23回日本バイオセラピー学会総会（会長：平川弘聖教授、大阪市立大学大学院・腫瘍外科）において特別企画「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—」が企画されたのもその表れである。アカデミアの立場から筆者、奥野（外科）、西條長宏氏（近畿大学・腫瘍内科）、PMDAの立場から赤川治郎氏（独立法人医薬品医療機器総合機構）、製薬企業の立場から小林和道氏（大塚製薬株式会社）による講演、公開討論がもたれた。その内容に基づいて本稿では、まずわが国のがんペプチドワクチン療法の現状を紹介し、次にFDAガイダンスの主旨と内容紹介、さらに本療法が抱える問題点、今後の課題を検討してみたい。

I. わが国におけるがんペプチドワクチン療法の現状

2006年、東京大学医科学研究所、中村祐輔教授を中心に Captivation Network が組織され、現在では全国約60施設の協力の下、多種類のがん腫に対してがんペプチドワクチン治療の医師主導型臨床試験が展開されている。それらのうちには企業主導治療に移行して将来市販化をめざすオリエティの高い臨床試験の成績が得られつつある。具体例として本稿では大腸癌、食道癌、膵癌に対する臨床試験を紹介する。肝癌、膀胱癌、腎癌、肺癌などについても有望な臨床試験が展開されており、詳細は他著¹⁾を参考にされたい。

1. 進行・再発大腸癌に対するがんペプチドワクチンと経口UFT/LV（UFT/Leucovorin）併用療法

奥野らによる進行・再発大腸癌に対する二種の大腸癌高発現遺伝子（RNF43, TOMM34）由来のHLA-A24拘束性がんペプチドと経口抗がん剤UFT/LVを併用する第I相試験である²⁾。21例に対して施行され、有害事象はこれまで報告されたUFT/LVのパターンとはほぼ同じで安全性に問題はない。全症例の無増悪生存期間、全生存期間（中央値）はそれぞれ7.2か月、24.4か月である。これらのうちRNF43, TOMM34両方にcytotoxic T lymphocyte (CTL) 活性が誘導されたのは8例、どちらか一方のCTL活性が誘導されたのが12例、いずれの活性も認められなかったのは1例であった。全症例の、さらにCTL活性の誘導能と生存期間との関連を検討したところ、両方にCTL活性が誘導された群は最も生存期間が良好であり、次いでどちらか一方にCTL活性が得られた群、いずれのCTL活性も得られなかった群（1例）が最も生存期間不良であった（図1）。

これらの結果から、われわれは、Stage III大腸癌の術後補助療法として最適な治療法と考え、多施設共同ランダム化比較試験に向けての feasibility study を開始している。

2. 標準療法不応性の食道癌に対するがんペプチドワクチン療法

河野浩二（山梨大学）らが中心となって行っている標準療法不応性の食道癌にHLA-A24拘束性の新規がんペプチド三種を用いる臨床研究である³⁾。第I相試験ではHLA-A24陽性の進行・再発食道癌10例に施行され、本法の安全性が確認された。さらに10例中9例にペプチド特異的T細胞反応が検出され、そのうち2例に臨床効果が認められた。この結果を受けて多施設共同の第II相探索的試験が行われた。全国7施設で標準療法不応性の進行・再発食道癌60例に対してがんペプチドを投与し、後にHLAで振り分ける方法（HLA-key open法）が採用された。わが国のHLAタイピングによるとHLA-A24陽性は約60%なので理論的にHLA-A24：非HLA-A24は6：4に割り振られるはずである。事実、本研究の60例はHLA-A24群が35例、非HLA-A24群が

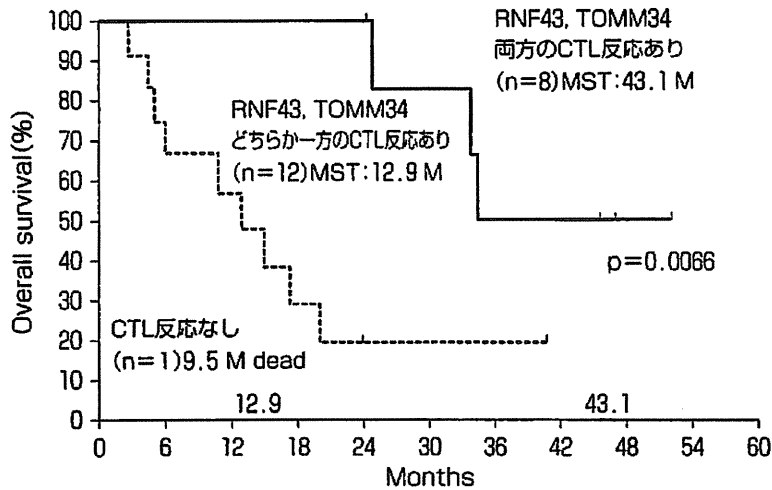


図1 RNF43, TOMM34のCTL反応と生存期間

15例であった。無増悪期間、全生存期間をHLAタイプに応じて分析するといずれもHLA-A24群が良好で、さらにペプチド特異的CTL細胞反応性と生存期間を検討すると三種ともに反応がみられた群、二種の反応がみられた群、次いで一種の群と続き、CTL反応なし群が最も生存期間が不良であった。現在はさらに同サイズ(60例)の探索的研究を実施中であり、これらの結果を基に企業主導治験に進む予定である。

3. 進行肺癌に対するペプチドワクチンとgemcitabine (GEM)の併用療法

山上裕機(和歌山県立医科大学)らによる進行肺癌に対して腫瘍新生血管因子レセプター2(VEGFR2)を標的としたHLA-A24拘束性ペプチドとGEMを用いる臨床研究である⁴⁾。彼らは第I相試験でペプチドの量を3段階に分けた3×3試験を行い、安全性を確認の上、T細胞反応の強い2.0mgを推奨用量とした。その後、全国27施設の多施設共同ランダム化試験(PEGASUS-PC Study)、すなわちHLA-A24陽性患者をペプチド群とプラセボ群を2:1に割り付けるランダム化第II/III相比較試験を開始した。2009年2月より開始し、6月には安全性に関する中間解析を行い、問題はなかった。2010年1月には153例の登録を終了し、11月の有効性に関する中間解析では「継続」の判定がだされている。この結果によっては、直ちに企業主導治験へ、さらに市販化へという道が期待されている。

このように標準療法抵抗性の進行肺癌、進行食道癌という極めて予後不良ながんでは臨床研究が早く進み、その効果判定基準の策定が喫緊の課題となっている。次項ではその指標となるFDAガイダンスの内容を紹介する。

II. FDAがん治療ワクチンのガイダンスの要点と解説

1. 試験デザイン

第I、II相(早期臨床試験)と第III相試験(後期臨床試験)に分けられるが、従来の化学抗がん剤とは異なる臨床試験デザインを考慮する必要がある。

標準療法抵抗性となったがん患者は担がん量が多い上に複数のがん治療(強力ながん化学療法や放射線療法)によって免疫システムが障害を受けている可能性がある。さらにがんワクチンで抗腫瘍免疫が誘導されるにも時間を要するため、結果的に抗腫瘍効果が発揮できない可能性がある。したがって本来、がんワクチン療法は微小な担がん状態の患者が適する。[筆者註:たとえば外科手術後のアジュバント療法は本法の最適な臨床応用であろう。]

2. 安全性の検証

第I相試験の目標は安全性プロファイル、換言すれば有害事象の検証とともに最大耐用量(maximum tolerated dose, MTD)の決定であるが、化学抗がん剤のような直線的に増加する

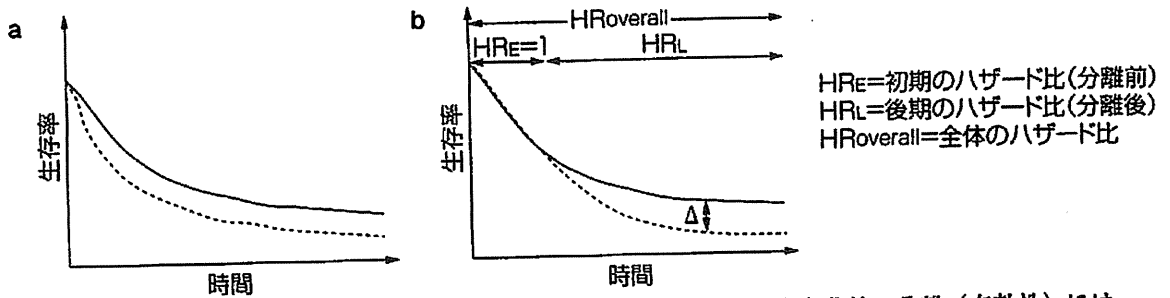


図2 a: 従来の化学抗がん剤の有効性検定における前提条件, ①生存曲線の分離(有効性)には時間を要しない。②死亡(イベント)は時間に比例して起こると仮定。
b: 生存曲線の遅延効果-モデルシナリオ, ①治療初期は効果が現れず, 一定期間後に生存曲線が分離する(有効性が発揮される)。②分離前の無効期間を代償する後期の生存曲線の分離(Δ)を評価することが必要。

dose-toxicity curve をとらないため, がんワクチンでは通常, MTD は観察されないことが多い。またヒトの免疫応答を誘導するがんワクチンでは実験動物を用いた前臨床試験は適応されないというのも大きな特徴である。

3. 免疫反応モニタリング

用量とスケジュールを最適化するために, 適切かつ再現性の高い免疫反応のモニタリングを確立することが重要である。このことは後期臨床試験デザインを考える上でも大きな理論的根拠となる。

4. 効果発現の遅延と評価法

がんワクチンによる特異的免疫反応が誘導されるためには一定期間を要することが多い。したがって生存期間を観察すると試験初期には効果を示さないが, 後期になって生存曲線の分離が起こることがしばしばみられる。これを評価するには従来の Cox 比例ハザードモデルは適切とはいえず, 新しい統計学的手法を導入すべきかもしれない。〔筆者註: 2008 年の米国臨床腫瘍学会の教育講演, ASCO2008 Educational Session: “Endpoints for immunotherapy studies: Design and regulatory implication” において Dr. Hoos は, 免疫療法に特徴的な生存期間の分離と統計解析法について解説を加えている(図 2a, b)。このような場合の統計解析法として Harrington-Fleming 検定などが適切とされる。〕

5. 併用療法

抗腫瘍免疫機構が解明されるにつれ, がんの免疫学的逃避機構もしだいに明らかにされてきた。

それに基づき, 抗原提示細胞の活性上昇, エフェクター T 細胞の活性化, 制御性 T 細胞の除去などを求めて他の併用薬, 併用療法も検討されるべき課題である。〔筆者註: この意味では化学抗がん剤や放射線療法も投与量, 投与時期を考えればがんワクチン療法の効果を増強させる可能性がある。ただし作用機序の解析がいっそう複雑になるため, 研究デザインの作成には慎重さが求められる。〕

以上, FDA ガイダンスから要点を解説した。なお, 正確を期すために筆者の考察, 加筆は筆者註として記載した。詳細は原文⁵⁾を参照されたい。

III. 克服すべき課題

アカデミア, 製薬企業, PMDA とともに最終目標は優れた治療薬を広く国民に届けることであり, 具体的には「医薬品としての市販化」である。がんペプチドワクチンはこれまでの抗がん剤とは異なる機序をもつ新しい抗腫瘍製剤であり, 新しい判定基準が必要である。そのためには三者相互の協力が不可欠である。ここではワクチン実用化に向けて克服すべき課題をそれぞれの立場, 役割から考察してみたい。

1. アカデミアの役割

医師主導型の第 I 相～早期第 II 相試験において有害事象を検討し, proof-of-principle (POP) を得て企業の治験に引き継ぐ。アカデミアでは GCP 準拠のデータは得られないため, 企業治験となれば「やり直し」を余儀なくされる。時間的, 労働的ロスをできるだけ避けるよう quality の高い臨

表1 一般臨床研究と治験の比較

	一般臨床研究	治験
根拠	厚労省告示 臨床研究倫理指針	薬事法 GCP 省令
届出/許可	機関の長	機関の長, 厚労省
未承認/適応外薬	不可	可
試験物のグレード	言及なし	GMP, GLP 1314号通知
安全性試験		要
DM (データマネジメント)		
モニタリング		
SAE (重篤な有害事象) 報告	機関の長→厚労省	機関の長, 厚労省
補償	介入研究で要	GCP 要
総括報告	機関の長	厚労省
文書保存	言及なし	5年以上
厚労省の調査	可能性あり	あり

(永井洋士・他：アカデミアにおける臨床開発の特徴と今後の方向性。
Mebio 27(12) : 135-140, 2010より引用, 一部改変)

床試験を行うことが肝要である。また米国 FDA ガイダンスを基に本邦でガイドラインを作成することもアカデミアの使命であろう。現在, 日本バイオセラピー学会では山口佳之 委員長 (川崎医科大学・臨床腫瘍学) の下, 日本版がん治療用ペプチドワクチンガイドランス (仮題) 案を作成中である。

2. PMDA の役割

審査機関という性格上, 年間数多くの申請書類が届く。しかし人的パワーが欧米に比較して十分ではないため, その仕事量は膨大なものになる。しかもそれらの審査を厳正に行う必要があるが, がんペプチドワクチンのような新しい抗腫瘍剤は従来の化学療法剤とは作用機序が異なるため, その審査に戸惑い, 難渋されることは想像に難くない。その際には米国の FDA ガイダンスは大きな指標となるが, 先に述べたわが国におけるがんペプチドワクチンガイドランスが策定されていれば大きな支援になる可能性がある。

3. 製薬企業の役割

治験の実施を行う。治験は薬事法の下, 薬剤は GCP 準拠でデータ管理体制やモニタリング体制が整備された環境で実施する必要がある (表1)。

文字どおり, ヒト, カネ, モノのハードルが格段に高く, 製薬企業が関与しないと事実上, 治験は実施できない。医師主導で実施された臨床試験のデータは使用できないが, できるだけ円滑に企業主導治験に移行するためにも企業はアカデミアとの協力体制を早めに構築して, プロトコルの作成, 治験参加施設の選定などの整備を行う必要がある。

おわりに

がん治療薬の開発においてわが国は欧米の後塵を拝しており, その結果, がん治療薬の輸入大国となり, わが国の医療費高騰の一因となっている。その原因の一つに臨床試験の枠組みの不備が指摘されている。臨床開発を効率よく実施するためにはアカデミア, 製薬企業, PMDA の相互の協力が必須である。がんペプチドワクチンは新しいタイプの抗腫瘍薬剤であり, 世界的にも正にこれからの開発薬剤である。今こそがんペプチドワクチンの臨床試験, 治験を円滑に進めて新しいがん治療薬を日本から世界に発信する時代である。

文 献

- 1) 中村祐輔・編: がんペプチドワクチン療法, 中山書店, 東京, 2009.
 - 2) 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(1):73-79, 2011.
 - 3) 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(8):1502-1509, 2009.
 - 4) 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(2):433-439, 2010.
 - 5) Guidance for industry: clinical considerations for therapeutic cancer vaccines, draft guidance. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research, 2009.
-

特集

進化するがん免疫療法(ワクチン療法, 細胞療法, 抗体療法)

ゲノム解析による
腫瘍抗原の同定*

奥野 清隆**

Key Words : tumor-associated antigen, direct immunology approach, reverse immunology approach

はじめに

1991年, Boonらがはじめてヒト悪性黒色腫からがん拒絶抗原を同定¹⁾して以来, 多くの研究者が同様の手法でヒトがん抗原を同定した. キラーT細胞(CTL)クローンを誘導したのち, それが腫瘍細胞mRNAから作製したcDNAライブラリーをもとに遺伝子導入したどの細胞株と反応するかを指標に遺伝子から腫瘍抗原を同定する手法である. 今日では直接法(direct immunology)と呼ばれる本法を用いて, 多くのがん腫に対して多くの腫瘍抗原が同定された. しかしながら, それらを用いた臨床研究では腫瘍縮小率は全体の2~3%にすぎず²⁾, がん治療ワクチンの創薬には大きな失望感が漂った. さらに, CTLクローンを誘導, 維持しながら標的細胞との反応性を検討して遺伝子を絞り込む本法は多大な時間と人的労力を要する上に, 細胞培養にかかるコストも大きく, 新たなブレイクスルーが必要であった. その後, 網羅的遺伝子解析からがん特異的な発現を示す分子を同定する手法が開発され, 新たに有望な腫瘍抗原を同定することに成功している. CTL誘導を目標としながらもCTL反応からの遺伝子同定ではなく, ゲノム全体から適切

ながん抗原を絞り込む手法(reverse immunology)はまさに「急がば回れ」の発想といえよう. 本稿では, ゲノム解析による腫瘍抗原の同定法についての代表的なこれらの方法につき解説する.

cDNAライブラリー法
(direct immunology approach)

1991年, Boonらはメラノーマ(悪性黒色腫)に対するCTLクローンを樹立する一方で, メラノーマ細胞からmRNAを抽出し, cDNAライブラリーを作製した. そして, 50~100遺伝子を含むこのライブラリーから得た各遺伝子とMHCクラスI分子を発現させたCOS細胞を標的細胞として先のCTLクローンとの間でみられるキラー反応を測定した(図1). こうしてCTLクローンが認識する遺伝子由来の腫瘍関連抗原(MAGE-1)を同定することに成功したわけである. その後, メラノーマに限らず, 腺がん, 扁平上皮がんからも次々と同様の手法で腫瘍関連抗原が同定された. この手法はCTLクローンを誘導し, その反応性から腫瘍抗原を同定する直接的な手法であるためdirect immunology approachと呼ばれる. こうしてヒトがんにおいて腫瘍関連抗原が数多く同定^{3)~5)}されたが, この方法は患者末梢血リンパ球からCTLクローンを樹立し, さらにそれを維持させる必要がある, 細胞培養にかかる時間と労力は大変なコストである. これを打開するために, 次項で述べる網羅的遺伝子解析法による腫瘍関連遺伝

* Identification of tumor-associated antigens by genome analysis.

** Kiyotaka OKUNO, M.D.: 近畿大学医学部外科[〒589-8511 大阪狭山市大野東377-2]; Department of Surgery, Kinki University Faculty of Medicine, Osaka-Sayama 589-8511, JAPAN

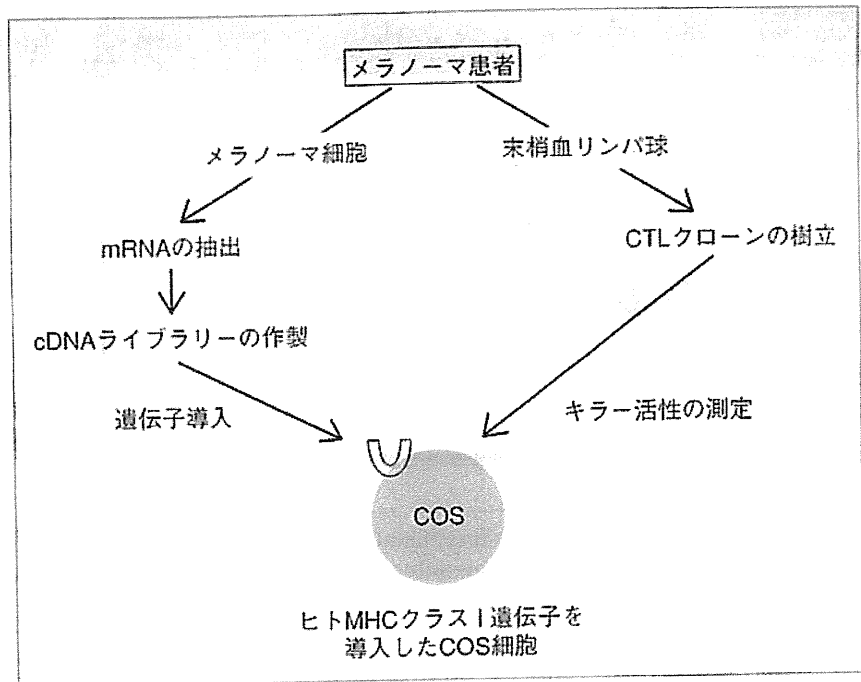


図1 ヒトメラノーマから腫瘍関連抗原(MAGE-1)の同定 (direct immunology approach)

表1 網羅的遺伝子解析による腫瘍関連抗原の同定 (reverse immunology approach)

段階(ステップ)別目的	方法	確認事項
1. 候補遺伝子の抽出	LMMによるがん細胞, 正常細胞の採取 cDNA microarrayによる発現解析	がん細胞, 正常細胞の純度 がん高発現遺伝子(群)の抽出
2. 候補遺伝子の選別	siRNAによる発現抑制	がん細胞増殖の停止, アポトーシスの誘導
3. ペプチドの結合予測	予測ソフトウェア(BIMAS®)による ペプチドの同定	HLAクラスI分子と高い結合能を有するペプチドの同定
4. CTL反応の測定	⁵¹ Cr遊離法によるCTL活性の測定	CTL活性の測定 (in vitro) と抗原特異性の検証

子の同定法が開発されるようになった。

網羅的遺伝子解析法 (reverse immunology approach)

ゲノム全体を検索してがん特異的な遺伝子発現を検索したのち、それらの中から腫瘍抗原として適切な特性を有する遺伝子産物を探索する手法²⁷⁾である。本法のキーポイントをいくつかのステップに分けて記載する(表1)。

1. 候補遺伝子の抽出

(1)LMM法によるがん細胞と正常細胞の採取
がん組織といっても臨床サンプルはがん細胞と間質(血管, 間葉系細胞, 線維芽細胞, リンパ球, マクロファージ)から形成されている。臨床的にはそれらをも含めた腫瘍塊が「がん」ともいえるが、遺伝子解析ではそれら間質がノイズと

なり、真のがん細胞の遺伝子発現評価を困難にする。そこで考案されたのがレーザーマイクロビームマイクロダイセクション(laser microbeam microdissection; LMM)という手法である。すなわち、凍結切片からLMMを用いてがん細胞のみを切り取り、その細胞からRNAを抽出したのを増幅させてがんサンプルを得る。同様に正常細胞もLMMを用いて採取し、RNAを抽出し、正常サンプルを得る。こうすることによってがん細胞にのみ特異的に発現が亢進している遺伝子(群)の抽出が可能になる。

(2)cDNAマイクロアレイ法による発現解析
LMMによって得たがん細胞, 正常細胞サンプルを約30,000種以上のcDNAやexpression sequence tag (EST)を搭載したマイクロアレイにブライして遺伝子発現プロファイルを解析する

これらを比較することで正常細胞では精巣または胎児期の臓器以外に発現を認めず、腫瘍特異的に発現する遺伝子(群)の同定⁸⁾⁹⁾がなされる。こうして得られた遺伝子由来の腫瘍特異的分子も精巣はHLAを発現していないため、CTLの攻撃は受けず、免疫学的に腫瘍特異的分子としての機能を発揮するわけである。

2. siRNA法による細胞増殖停止の確認

このようにして得られた腫瘍特異的分子の中には腫瘍細胞に発現はするものの細胞増殖、進展に関与しない分子もありうる。そのような場合、発現が消失しても細胞増殖が進み、結果としてがんの進展が抑えられないため、このような分子は腫瘍拒絶抗原として不適切ということになる。そこでsiRNA法で標的遺伝子発現を抑制した場合、細胞周期の停止、アポトーシスの誘導が起こるか否かを確認することが重要になる。こうしてがん細胞に特異的に発現しているだけでなくがん細胞の増殖に重要な分子、換言すればがん拒絶抗原として適切な分子を絞り込むことができるようになる。

3. 予測ソフトウェア(BIMAS[®])による抗原ペプチドの同定

このようにして得られた新規がん抗原分子から次のステップはCTL誘導を目的とした候補ペプチドの選定である。CTLは標的細胞のクラスI分子に乗った約9~10個のペプチドを認識することから、本邦では人口の約60%が陽性であるHLA-A*2402に結合するペプチドの同定がよく行われる。もちろんHLA-A*0201、-A*1101などにも結合するペプチドが同定されれば、本邦のほぼ全患者をカバーすることが可能であるが(表2)、まずこのようなアプローチ、すなわちペプチドワクチン療法ががん治療として有効であるか否かを検証することが先決である。具体的には候補遺伝子のアミノ酸配列の中で、あるポジションから開始される9または10アミノ酸配列の候補をもとにそれぞれの結合予測スコアをコンピュータソフトウェアで算出し、スコア値の高いペプチド配列を選定する。

4. CTLの誘導と⁵¹Cr遊離法による活性測定

次のステップは、こうして同定された9merないし10merペプチドによる特異的CTLの誘導能

表2 日本人のHLAタイプ

HLA-A	頻度(%)
*2402	61
*0201	20
*1101	18
*3303	16
*0206	16
*3101	15
—	—

(日本組織適合性学会より)

とそのキラー活性強度の測定である。これは、HLA-A24陽性の健康人末梢血リンパ球を用いて⁵¹Cr遊離法で測定する。候補ペプチドをパルスした抗原提示細胞で*in vitro*共培養してペプチド反応性CTLを誘導する。そのキラー活性は⁵¹Crラベルした当該標的細胞の特異的な細胞傷害活性で測定する。CTLの特異性を評価するためには当該ペプチド抗原を有しない標的細胞、HLA-A24抗原以外の標的細胞などをそれぞれ対照として用いる。

臨床試験による評価

こうして得られたペプチドワクチンは臨床試験によって評価される。医薬品としての市販化には企業主導治験が必須であるが、それまでの早期(第I/II相)試験は医師主導の臨床試験として実施されることも多い。基本的にはその評価は化学療法剤の臨床試験を踏襲するが、がんワクチン特有の薬剤特性、作用機構に適合した基準をつくるべきという考えがあり、2009年に米国Food and Drug Administration (FDA)はガイダンス(draft版)¹⁰⁾を発行し、public commentsを求めている。わが国でも日本バイオセラピー学会が中心になり、がんペプチドワクチンのガイドラインを作成すべく活動を行っている。2011年末には初版を発行できる見込みである。

おわりに

ゲノム解析による腫瘍抗原の同定について2つの代表的な解析法を解説した。cDNAライブラリー法はBoonらによってメラノーマを用いて開発されたが、伊東恭悟教授(久留米大学)らはわが国で頻度の高い腺がん、扁平上皮がんにおいて解析を進め、これまで40~50種類のがん抗原をペプチド

レベルで同定している。彼らは各種の進行がん患者に対してペプチド応答能を測定した上で、投与ペプチドを選択するテラーメイド型がんワクチン療法を展開している¹⁰⁾。一方、網羅的遺伝子解析法は中村祐輔教授(東京大学医科学研究所)らを中心に多種類のがん腫において解析され、それぞれに高発現する有望なペプチドが多数同定された。その臨床効果を検証するのはわれわれ臨床医の仕事である。現在は全国約60施設の臨床機関による医療ネットワーク(Captivation Network)が形成され、その臨床効果が検証されている¹¹⁾。ペプチドワクチン療法に適切ながん腫は？ 何種類のペプチドを使うべきか？ 抗がん剤は併用すべきか？ 併用するならその抗がん剤は？ 治療法がなくなった状態の患者を対象とするのは適切か？ 術後補助療法の適応は？ などなど解決すべき問題は山積しているが、年に1度全国の研究者が一堂に会し、進捗状況を報告しながら今後の方向性を模索している。成果は着実に集積しており、一般臨床の現場にがんペプチドワクチンを還元できる日はそう遠くない将来であることを確信しつつ、本稿を終える。

文 献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991 ; 254 : 1643.
- 2) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004 ; 10 : 909.
- 3) Brouwenstijn N, Gaugler B, Kruse KM, et al. Renal-cell carcinoma-specific lysis by cytotoxic T-lymphocyte clones isolated from peripheral blood lymphocytes and tumor-infiltrating lymphocytes. *Int J Cancer* 1996 ; 68 : 177.
- 4) Echchakir H, Mami-Chouaib F, Vergnon I, et al. A point mutation in the alpha-actinin-4 gene generates an antigenic peptide recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on a human lung carcinoma. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 4078.
- 5) Wang RF, Johnston SL, Zeng G, et al. A breast and melanoma-shared tumor antigen : T cell responses to antigenic peptides translated from different open reading frames. *J Immunol* 1998 ; 161 : 3598.
- 6) Viatte S, Alves PM, Romero P. Reverse immunology approach for the identification of CD8 T-cell-derived antigens : advantages and hurdles. *Immunol Cell Biol* 2006 ; 84 : 318.
- 7) 中村祐輔. ゲノム解析による新しい腫瘍抗原の同定. *Mebio* 2010 ; 27 : 36.
- 8) Okabe H, Satoh S, Kato T, et al. Genome-wide analysis of gene expression in human hepatocellular carcinoma using cDNA microarray : identification of genes involved in viral carcinogenesis and tumor progression. *Cancer Res* 2001 ; 61 : 2129.
- 9) Suda T, Tunoda T, Daigo Y, et al. Identification of human leukocyte antigen-A24-restricted epitope peptides derived from gene products upregulated in lung and esophageal cancers as novel targets for immunotherapy. *Cancer Sci* 2007 ; 98 : 1803.
- 10) US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for Industry : Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines, draft guidance 2009. Available from : URL : <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/ucm182443.htm>.
- 11) Itoh K, Yamada A. Personalized peptide vaccines a new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* 2006 ; 97 : 970.
- 12) 中村祐輔. 臨床研究の現状と薬剤開発へ向けた課題. 中村祐輔・編. がんペプチドワクチン療法. 東京 : 中山書店 ; 2009. p. 44.

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)

奥野 清隆 杉浦 史哲 肥田 仁一 所 忠男 石丸英三郎
上田 和毅*

[*Jpn J Cancer Chemother* 38(12): 1906-1908, November, 2011]

Preliminary Study of Peptide Vaccine with UFT/LV as Adjuvant Setting for Stage III Colorectal Cancer: Kiyotaka Okuno, Fumiaki Sugiura, Jin-ichi Hida, Tadao Tokoro, Eizaburo Ishimaru and Kazuki Ueda (*Dept. of Surgery, Kinki University Faculty of Medicine*)

Summary

cDNA microarray technology has been used to identify HLA-A24-restricted epitope peptides as potential targets for cancer vaccination in metastatic colorectal cancer patients. We conducted a clinical trial of two novel cancer-specific peptides (RNF43, TOMM34) with UFT/LV for the treatment of recurrent colorectal cancer. Among 23 patients, 21 patients had completed the protocol. All patients were well tolerated with no severe toxicities. The median survival time was 24.4 months. Furthermore, we investigated the relationship between CTL response to both antigens and overall survival. The best long-term survival was observed in the group with CTL responses against both antigens, followed by the group showing CTL responses against only RNF43 or TOMM34. The patients with no response had the lowest survival. Based on the results, we started a randomized trial of the current protocol, as adjuvant immunotherapy in following curative resection of Stage III colorectal cancer patients. **Key words:** Peptide vaccine, Immunotherapy, Colorectal cancer

要旨 網羅的遺伝子解析によって同定された大腸癌高発現性遺伝子からいくつかの HLA-A24 拘束性の新規がんペプチド (RNF43, TOMM34) が同定された。23 例の再発・進行大腸癌に対して、がんペプチドワクチンと経口抗癌剤 UFT/LV の併用療法を施行したところ完遂できた 21 例では、有害事象が軽微で、全生存期間中央値 (MST) も 24.4 か月と良好であった。しかも RNF43, TOMM34 とともに CTL 反応性がみられた群が最も生存期間が長く、次いでどちらか一方の反応が得られた群、いずれにも反応がなかった群は最も生存期間が不良であった。この結果を基に Stage III 大腸癌の術後再発予防に本療法を応用すべく、ランダム化比較試験を開始している。

緒言

Stage III 大腸癌の術後補助療法のレジメンはいまだ議論の余地がある。欧米では大規模試験 (NSABP C-07 試験, MOSAIC 試験) の結果から oxaliplatin を基本とした強力な化学療法が推奨されるが、手術療法の成績が良好なわが国では副作用の強いその療法を補助療法として用いることに抵抗が強い。われわれはこれまで東京大学医学研究所、中村祐輔教授らとともに大腸癌に高発現性の遺伝子由来がんペプチドと経口抗癌剤 UFT/LV を極度再発・進行大腸癌に対して投与する臨床試験を行ってきた。その結果、本療法は副作用が軽微で、安全に施行

可能であることに加えて、ペプチド抗原特異的キラー T 細胞 (CTL) が誘導され、さらにそれが生存期間と相関が得られることを確認した。

CTL は、微小残存癌に有効性が高いことを考えれば本療法こそ Stage III 大腸癌の術後補助療法に最適であると考え、実用化に向けた臨床試験を開始している。

I. 切除不能の再発・進行大腸癌に対するペプチドワクチンと UFT/LV 併用療法¹⁾

再発・進行大腸癌患者 23 例に対して、網羅的遺伝子解析によって同定された大腸癌高発現性の新規遺伝子 RNF43 と TOMM34 由来の HLA-A24 拘束性ペプチド

* 近畿大学医学部・外科

Table 1 Patient characteristics

No.	Age	Gender	Primary care	Sites of Mets	PS	Previous treatment
1	56	M	R	Pelvis	0	UFT, CPT-11
2	64	F	S	Lung	0	5-FU, UFT/LV
3	57	F	R	Lymph nodes	1	5-FU/LV, CPT-11, S-1
4	42	M	R	Pelvis	0	None
5	53	F	S	Lung	0	UFT/LV, vaccine
6	54	M	R	Lung	0	None
7	74	F	S	Lymph nodes	0	5-FU, UFT/LV
8	78	M	R	Lung, lymph nodes	1	5-FU, UFT/LV, CPT-11
9	58	M	R	Lung	1	None
10	46	M	T	Liver, lymph nodes	1	FOLFOX, FOLFIRI, vaccine
11	59	M	S	Primary ca, liver, lymph nodes	1	FOLFIRI, FOLFOX
12	66	M	S	Lung, liver, lymph nodes	0	S-1
13	66	F	RS	Lung	0	UFT/LV
14	49	M	S	Lung, liver	0	None
15	51	F	S	Liver, lymph nodes	1	UFT/LV, CPT-11
16	66	M	R	Lung, liver, lymph nodes	1	UFT/LV
17	61	F	C	Liver, lymph nodes	1	FOLFOX + Bev, FOLFIRI + Bev
18	54	M	S	Primary ca, liver, lymph nodes	0	FOLFOX + Bev, UFT/LV
19	83	M	S	Lung	0	UFT
20	66	M	R	Lung, pelvis, bone	0	FOLFOX + Bev, FOLFIRI + Bev
21	61	M	R	Lung, pelvis	1	FOLFOX + Bev, FOLFIRI, CPT-11 + Cet
22	73	M	R	Lung, pelvis, lymph nodes	0	FOLFOX + Bev, FOLFIRI, CPT-11 + Cet
23	65	M	R	Lung, pelvis	0	FOLFOX + Bev, FOLFIRI + Bev, IRIS

Bev: bevacizumab, Cet: cetuximab

Table 2 Adverse events

Toxicity	Total	Grade 1	Grade 2	Grade 3
Anemia	5(24%)	5(24%)	0	0
Transaminase elevation	3(14%)	3(14%)	0	0
Hyperbilirubinemia	2(10%)	2(10%)	0	0
Anorexia	5(24%)	5(24%)	0	0
Nausea	2(10%)	2(10%)	0	0
Malaise	3(14%)	3(14%)	0	0
Vaccine site reaction	17(81%)	17(81%)	0	0

と経口抗癌剤 UFT/LV を投与した (Table 1)。RNF43, TOMM 34 ペプチドワクチン各 1 mg をモンタナイド 1 mL に溶解して 1 週間ごとに皮下投与, UFT と Uzel は各 300 mg/m²/day, 75 mg/day を 4 週投与, 1 週休薬の 5 週間を 1 コースとし, 2 コース繰り返す。各コースの前後で画像評価, 安全性評価ならびに末梢血リンパ球採取を行い, それぞれのペプチド特異的 CTL 反応 (ELISPOT assay による IFN- γ 産生能) を測定した。以降は患者希望に応じて治療を延長, 継続した。その結果, 本プロトコルは重篤な有害事象なく, 安全に施行できた (Table 2)。23 例中 21 例が本療法を完遂し, 最長例は 3 年以上を経過している。21 例のうち RNF43,

TOMM34 両方に CTL 活性が誘導されたのは 8 例, どちらか一方の CTL 活性が誘導されたのが 12 例, いずれの活性も認められなかったのは 1 例であった。全症例の無増悪生存期間 (PFS), 全生存期間中央値 (MST) はそれぞれ 7.2 か月, 24.4 か月であった。さらに, CTL 活性の誘導能と生存期間との関連を検討したところ, 両方に CTL 活性が誘導された群が最も生存期間が良好であり, 次にどちらか一方に CTL 活性が得られた群, いずれの CTL 活性も得られなかった群 (1 例) が最も生存期間不良であった (Fig. 1)。

II. Stage III 大腸癌の術後再発予防をめざした UFT/LV 併用ペプチドワクチン療法 (HLA-key open 法)

この免疫化学療法は, 担癌量の少ない Stage III 大腸癌の術後再発予防にこそ威力を発揮できることが予想される。そこでわれわれは Stage III 大腸癌の術後に本治療を 6 コース投与するプロトコルを作製し, その安全性ならびに実行可能性 (feasibility) を検討した。本ペプチドワクチンは HLA-A24 拘束性であるため, HLA-A24 陽性症例に有効で, それ以外は無効となるはずである。本邦では HLA-A24 陽性は約 60% であるため, 理論上, 6:4 に割り振られることになる。これは HLA-key open

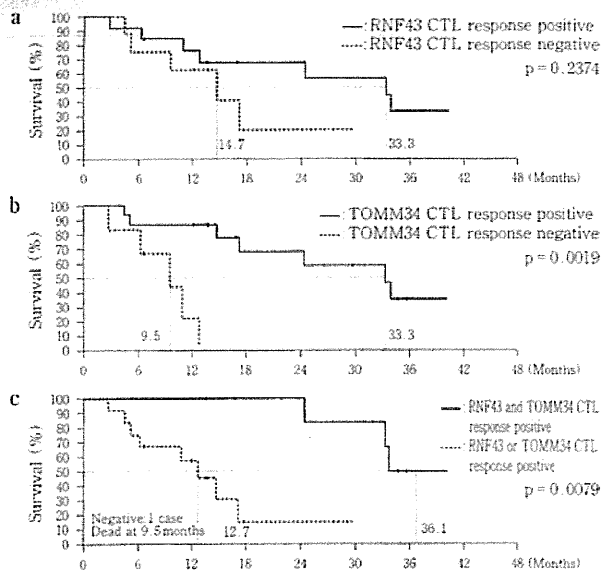


Fig. 1 The relationship between CTL responses and overall survival

- a: CTL response to RNF43 and survival.
 b: CTL response to TOMM34 and survival.
 c: CTL responses to RNF43 and/or TOMM34 and survival.

法というランダム化手法であり、これまでに行われた他の探索的臨床試験でも事実、6:4に割り振られていた。これまで11例に施行し、うち7例はすでに6コースを完遂している。現在はフォローアップ中であるが再発例はなく、今後は多施設共同試験の実施も可能と考えている。

III. 今後の展望

21例の切除不能再発・進行大腸癌に対するがんペプチドワクチン(RNF43, TOMM34)とUFT/LV併用療法は重篤な副作用がなく、MSTも約2年(24.4か月)と良好であった。しかも2種のペプチド特異的CTL反応性と生存期間に相関がみられたことから、これらがバイオマーカーとして機能する可能性も考えられ、まったく新しいタイプの免疫化学療法として期待される³⁾。さらにこの治療法は、Stage III大腸癌術後の再発予防にこそ威力を発揮すると考えられる。Stage III大腸癌の術後補

助療法は、欧米ではoxaliplatin-basedの強力な化学療法が推奨されているが、本来、手術単独の手術成績の良好な本邦では、有害事象の強いそれらを補助療法として利用するには抵抗がある。CTLは、その作用機序から考えても微小癌病巣の治療に適しており、FDAガイダンス(draft guidance)³⁾でもそのことが言及されている。それらの観点から本法がStage III大腸癌術後の補助療法として応用可能かを検証するため、まずパイロット試験を行ったところ、11例中7例はすでに6コースの治療を安全に完遂できて、そのfeasibilityは確認された。次は探索的研究として少数例での多施設共同ランダム化試験を計画している。もちろん最終的には、製品化をめざして企業主導の治験につなげていく必要があるが、再発予防に勝る治療はなく、医療経済上のメリットも計り知れない。大腸癌の化学療法はすべて欧米の後塵を拝しており、ぜひわが国から新規の免疫化学療法を世界に発信したいと考えている。

謝辞 本研究は東京大学医科学研究所、ヒトゲノム解析センター、中村祐輔教授、角田卓也博士、吉田浩二博士らとの共同研究であり、同研究室には多大なるご協力を賜った。ここに深甚なる謝意を表明する。

文 献

- 1) 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(1): 73-79, 2011.
- 2) Okuno K, Sugiura F, Itoh K, *et al*: Recent advances in active cancer vaccine treatment for colorectal cancer. *Curr Pharm Biotechnol* (in press).
- 3) US Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Biologics Evaluation and Research. Guidance for Industry: Clinical Considerations for Therapeutic Cancer Vaccines, draft guidance. 2009. <http://www.fda.gov/BiologicsBloodVaccines/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/Vaccines/ucm182443.htm>

本論文の要旨は第32回癌免疫外科研究会において発表した。

