

・副次評価項目

- ①有害事象の種類と発現率。
- ②免疫学的モニタリングによる末梢血中の GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の頻度の増加の評価。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

肝細胞がんの手術・ラジオ波焼灼療法での根治的治療後の再発予防を目指した第Ⅱ相試験は、順調に症例登録が進んでおり、本年度中に登録予定症例の 40 例の登録完了が見込まれる。

中間解析は来年度施行予定である。参考値として、ワクチン投与後 1 年経過した 22 例の 1 年再発率は 22.7%、コントロール設定とした国立がん研究センター東病院初回切除症例 80 例の 1 年再発率は 42.2% となっている。

またワクチン投与後に再発した 2 名の患者が、国立がん研究センター東病院で再発病変の切除を受けており、十分なインフォームド Consent のもと、再発病変の切除検体に関して免疫学的な解析を行っている。

D. 考察

ペプチドワクチン療法の再発予防効果に関してのエビデンスは乏しく、本臨床試験は、がんワクチン療法に関して重要なエビデンスを創出する可能性があると考えられる。

E. 結論

肝細胞がんの手術・ラジオ波焼灼療法での根治的治療後の再発予防を目指した第Ⅱ相試験は、順調に症例登録が進んでおり、早急な登録完了を目指す。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshikawa T, Nakatsugawa M, Suzuki S, Shirakawa H, Nobuoka D, Sakemura N, Motomura Y, Tanaka Y, Hayashi S, Nakatsura T. HLA-A2-restricted glypican-3 peptide-specific CTL clones induced by peptide vaccine show high avidity and antigen-specific killing activity against

tumor cells. *Cancer Sci.* 102(5):918-25, 2011.

- 2) Nobuoka D, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Kuronuma T, Takahashi M, Nakachi K, Ishii H, Furuse J, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kinoshita T, Komori H, Baba H, Fujiwara T, Nakatsura T. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma induces glypican-3 peptide-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int J Oncol.* 40(1):63-70, 2012.
- 3) Sawada Y, Yoshikawa T, Nobuoka D, Shirakawa H, Kuronuma T, Motomura Y, Mizuno S, Ishii H, Nakachi K, Konishi M, Nakagori T, Takahashi S, Gotoda N, Takayama T, Yamao K, Uesaka K, Furuse J, Kinoshita T, Nakatsura T. Phase I trial of glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma showed immunological evidence and potential for improving overall survival. *Clin. Cancer Res.* in press, 2012.
- 4) 中面哲也、国立がん研究センター東病院でのがんペプチドワクチン療法臨床試験の取り組み（第7回DIA日本年会 グローバル開発における日本の役割・日本の貢献 大学・研究機関・企業での臨床試験の実際）、*臨床医薬* 27(5):313-321, 2011.
- 5) 中面哲也、澤田雄、水野正一、肝臓の個別化医療—ワクチン・免疫療法を中心に—（特集：癌個別化医療はどこまですすんだのか）、*臨床雑誌「外科」* 73(10):1062-1068, 2011.
- 6) 澤田雄、中面哲也、ペプチドワクチンを用いた免疫療法 glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチン療法（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））、*腫瘍内科* 8(5):417-424, 2011.
- 7) 中面哲也、第9章 がん治療の新たな展開 治療法・治療装置の進歩 4. ペプチドワクチン療法、（先端医療シリーズ42）*消化器疾患の最新医療、先端医療技術研究所*、p164-167, 2011.

2. 学会発表

- 1) glypican-3 由来がんペプチドワクチン療法における多施設共同研究の現状と展望、中面哲也、吉川聡明、澤田雄、信岡大輔、水野正一、木下平、小西大、高橋進一郎、後藤田直人、光永修一、池田公史、鈴木史朗、柴田清住、吉川史隆、細野亜古、原純一、真部淳、塩田曜子、木下義晶、孝橋賢一 第 24 回日本バイオセラピィ学会学術集会総会（和歌山）、2011 年 12 月 1 日～2 日
- 2) GPC3 ペプチドワクチンに誘導された末梢血単

核球 50 万個中の GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の最大頻度 50 以上は有意な生命予後因子である、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第 15 回日本がん免疫学会総会（大阪）、2011 年 6 月 30 日～7 月 1 日

3. その他 なし

- 3) 進行肝細胞がんにおける glypican-3 由来ペプチドワクチン療法の予後因子-末梢血中 GPC3 ペプチド特異的 T 細胞頻度-、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第 31 回日本分子腫瘍マーカー研究会（名古屋）、2011 年 10 月 2 日
- 4) The increase of Glypican-3 peptide-specific CTLs after vaccination as a prognostic factor for clinical trial of glypican-3-derived peptide vaccine. 澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、齊藤桂吾、水野正一、中面哲也 東京理科大学がん基盤科学技術研究センター国際会議（東京）、2011 年 9 月 1 日～2 日
- 5) Glypican-3(GPC3) 由来ペプチドワクチンにより著明な臨床効果を示した患者由来 PBMC を用いたペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞クローンの樹立、多田好孝、吉川聡明、下村真菜美、白川博文、信岡大輔、澤田雄、中面哲也 第 39 回日本臨床免疫学会総会（東京）、2011 年 9 月 15 日～17 日
- 6) HLA 多型に基づく、がん免疫療法・個別化医療の臨床応用、西村泰治、中面哲也、富田雄介、中村祐輔、千住覚 第 56 回日本人類遺伝学会・第 11 回東アジア人類遺伝学会共同大会（千葉）、2011 年 11 月 9 日～12 日
- 7) GPC3 ペプチドワクチン投与後、顕著な抗腫瘍効果とともに急性炎症反応、肝機能障害をきたした肝細胞がんの 1 例、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、高橋真理、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第 24 回日本バイオセラピー学会学術集会総会（和歌山）、2011 年 12 月 1 日～2 日
- 8) Identification of H2-K^b or -D^b restricted and glypican-3-derived CTL epitope peptide. 岩間達章、堀江和峰、吉川聡明、信岡大輔、下村真菜美、中面哲也 第 40 回日本免疫学会学術集会（千葉）、2011 年 11 月 27 日～29 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

進行肝細胞がん患者を対象とした glypican-3 由来ペプチドワクチン療法の 免疫学的有効性を評価する臨床試験

研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長
研究分担者 木下 平 国立がん研究センター東病院 院長
小西 大 国立がん研究センター東病院 副院長
池田 公史 国立がん研究センター東病院 肝胆膵腫瘍科 副科長
建石 良介 東京大学医学部附属病院 消化器内科 助教
佐藤 昇志 札幌医科大学医学部 病理学第一講座 教授
吉村 健一 京都大学医学部附属病院 探索医療センター検証部 特定助教

研究要旨

国立がん研究センター東病院において施行された、進行肝細胞がん患者を対象にした glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチン臨床第 I 相試験の結果を受け、進行肝細胞がん患者を対象とした腫瘍局所での免疫学的有効性を評価する臨床試験を開始し現在症例登録中である。本臨床試験は、ワクチン投与後の腫瘍浸潤リンパ球を解析するため、進行肝細胞がん患者を対象に、GPC3 ペプチドワクチン療法前後で腫瘍生検を行う。本研究は、腫瘍浸潤リンパ球も評価して、GPC3 由来ペプチドワクチン療法のさらなる免疫学的エビデンスを得ることを目的としている。

今回この臨床試験で、GPC3 ペプチドワクチン投与後に、顕著な抗腫瘍効果をきたした肝細胞がんの 1 症例を経験した。高度進行症例にも関わらず、わずか 2 回のワクチン投与により肝内の多発病変のほとんどが壊死に陥っており、顕著な抗腫瘍効果を認めたが、下大静脈腫瘍栓の増大により長期予後は得ることができなかった。高度進行がんに対して限定的ではあるが、抗腫瘍効果は期待でき、早急な予定登録症例 20 例の登録完了を行い、さらなる GPC3 ペプチドワクチン療法の免疫学的エビデンスを得ることを目指す。GPC3 ペプチドは製薬企業への導出が実現され、今後は企業治験も見込まれるが、本研究は、がん免疫療法の概念実証となる可能性を持った臨床研究である。

A. 研究目的

進行肝細胞がんを対象とした glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験の結果を踏まえ、進行肝細胞がん患者を対象とした臨床試験として、腫瘍局所での免疫学的有効性を評価する臨床試験を国立がん研究センター倫理審査委員会で承認され、開始した。本臨床試験は、ワクチン投与後の腫瘍浸潤リンパ球を解析するため、進行肝細胞がん患者を対象に、GPC3 ペプチドワクチン療法前後で腫瘍生検を行うプロトコールとなっている。本研究は、末梢血中のペプチド特異的 CD8 陽性 T 細胞の頻度の解析だけでなく、腫瘍内への CD8 陽性 T 細胞浸潤も評価して GPC3 由来ペプチドワクチン療法のさらなる免疫学的エビデンスを得ることを目的としている。GPC3 ペプチドは製薬企業への導出が実現され、今後は企業治験も見込まれるが、本研究は、がん免疫療法の概念実証となる可能性を持った臨床研究である。

B. 研究方法

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療法の免疫学的有効性を評価する臨床試験

・対象と治療

局所療法が無効あるいはその適応がなく、ソラフェニブの適応もない肝細胞がん、もしくは、ソラフェニブが不応もしくはそれを拒否した症例を対象とする。また、HLA タイピング検査により HLA-A*24:02、02:01、02:06、02:07 のいずれかが陽性であることと、試験登録後の腫瘍生検を必須とする。HLA のタイプにより、HLA-A24 結合性 GPC3 由来ペプチド (EYILSLEEL) または HLA-A2 結合性 GPC3 由来ペプチド (FVGEFFTDV) を用いる。ペプチドワクチンの 1 回投与量は 3mg とし、2 週間に 1 回の皮内投与を行う。明らかな原病の増悪などプロトコール治療中止基準への該当が確認された時点でワクチン治療を中止する。ペプチドワクチン投与後 (1 回目の画像診断から 1 ヶ月以内) に腫瘍組織の

生検を行う。

・主要評価項目

免疫学的有効性の評価

- ① 末梢血中の GPC3 ペプチド特異的 CD8 陽性 T 細胞の頻度の増加の評価
- ② ペプチドワクチン投与前後の生検組織検体における CD8 陽性 T 細胞の腫瘍内浸潤の増加の評価

・副次評価項目

無増悪期間、病勢制御率、奏効率、腫瘍マーカーの奏効の割合、有害事象の種類と発現割合、全生存期間

予定登録数はペプチドワクチン投与前後の腫瘍生検が施行された症例(評価症例)が 20 例に達するまで。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

症例登録が進んでおり、予定登録症例の 20 例登録完了を目指す。

今回この臨床試験で、GPC3 ペプチドワクチン投与後に、顕著な抗腫瘍効果をきたした肝細胞がんの 1 症例を経験した。高度進行症例にも関わらず、わずか 2 回のワクチン投与により肝内の多発病変のほとんどが壊死に陥っており、顕著な抗腫瘍効果を認めた症例であった。しかし、顕著な抗腫瘍効果とともに急性炎症反応、肝機能障害をきたしており、その後肝機能は改善したものの 2 回目のワクチン投与から 1 カ月後に死亡されたため、病理解剖を施行した。その結果、肝内のほとんどの腫瘍は壊死に陥った一方、下大静脈内腫瘍栓は著明に増大し、腫瘍栓の増大による循環不全死と診断された。

D. 考察

現状、高度進行がんに対して限定的ではあるが、抗腫瘍効果は期待でき、早急に症例登録を完了し、本臨床試験での免疫学的エビデンスを得ることを目指す。

E. 結論

Glypican-3(GPC3) ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験の結果を踏まえ、さらなる免疫学的エビデンスを得るため、進行肝細胞がん患者を対象とした腫瘍局所での免疫学的有効性を評価する臨床試験を開始し、現在症例登録中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshikawa T, Nakatsugawa M, Suzuki S, Shirakawa H, Nobuoka D, Sakemura N, Motomura Y, Tanaka Y, Hayashi S, Nakatsura T. HLA-A2-restricted glypican-3 peptide-specific CTL clones induced by peptide vaccine show high avidity and antigen-specific killing activity against tumor cells. *Cancer Sci.* 102(5):918-25, 2011.
- 2) Nobuoka D, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Kuronuma T, Takahashi M, Nakachi K, Ishii H, Furuse J, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kinoshita T, Komori H, Baba H, Fujiwara T, Nakatsura T. Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma induces glypican-3 peptide-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int J Oncol.* 40(1):63-70, 2012.
- 3) Sawada Y, Yoshikawa T, Nobuoka D, Shirakawa H, Kuronuma T, Motomura Y, Mizuno S, Ishii H, Nakachi K, Konishi M, Nakagohri T, Takahashi S, Gotoda N, Takayama T, Yamao K, Uesaka K, Furuse J, Kinoshita T, Nakatsura T. Phase I trial of glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma showed immunological evidence and potential for improving overall survival. *Clin. Cancer Res.* in press, 2012.
- 4) 中面哲也、国立がん研究センター東病院でのがんペプチドワクチン療法臨床試験の取り組み (第7回DIA日本年会 グローバル開発における日本の役割・日本の貢献 大学・研究機関・企業での臨床試験の実際)、*臨床医薬* 27(5):313-321, 2011.
- 5) 中面哲也、澤田雄、水野正一、肝癌の個別化医療—ワクチン・免疫療法を中心に— (特集: 癌個別化医療はどこまですすんだのか)、*臨床雑誌「外科」* 73(10):1062-1068, 2011.
- 6) 澤田雄、中面哲也、ペプチドワクチンを用いた免疫療法 glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチン療法 (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))、腫瘍内科 8(5): 417-424, 2011.

- 7) 中面哲也、第9章 がん治療の新たなる展開 治療法・治療装置の進歩 4. ペプチドワクチン療法、(先端医療シリーズ42) 消化器疾患の最新医療、先端医療技術研究所、p164-167, 2011.

2. 学会発表

- 1) glypican-3 由来がんペプチドワクチン療法における多施設共同研究の現状と展望、中面哲也、吉川聡明、澤田雄、信岡大輔、水野正一、木下平、小西大、高橋進一郎、後藤田直人、光永修一、池田公史、鈴木史朗、柴田清住、吉川史隆、細野亜古、原純一、真部淳、塩田曜子、木下義晶、孝橋賢一 第24回日本バイオセラピー学会学術集会総会(和歌山)、2011年12月1日～2日
- 2) GPC3 ペプチドワクチンに誘導された末梢血単核球 50 万個中の GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の最大頻度 50 以上は有意な生命予後因子である、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第15回日本がん免疫学会総会(大阪)、2011年6月30日～7月1日
- 3) 進行肝細胞がんにおける glypican-3 由来ペプチドワクチン療法の予後因子-末梢血中 GPC3 ペプチド特異的 T 細胞頻度-、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第31回日本分子腫瘍マーカー研究会(名古屋)、2011年10月2日
- 4) The increase of Glypican-3 peptide-specific CTLs after vaccination as a prognostic factor for clinical trial of glypican-3-derived peptide vaccine. 澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、下村真菜美、齊藤桂吾、水野正一、中面哲也 東京理科大学がん基盤科学技術研究センター国際会議(東京)、2011年9月1日～2日
- 5) Glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチンにより著明な臨床効果を示した患者由来 PBMC を用いたペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞クローンの樹立、多田好孝、吉川聡明、下村真菜美、白川博文、信岡大輔、澤田雄、中面哲也 第39回日本臨床免疫学会総会(東京)、2011年9月15日～17日
- 6) HLA 多型に基づく、がん免疫療法・個別化医療の臨床応用、西村泰治、中面哲也、富田雄介、中村祐輔、千住覚 第56回日本人類遺伝学会・第11回東アジア人類遺伝学会共同大会(千葉)、

2011年11月9日～12日

- 7) GPC3 ペプチドワクチン投与後、顕著な抗腫瘍効果とともに急性炎症反応、肝機能障害をきたした肝細胞がんの1例、澤田雄、信岡大輔、吉川聡明、高橋真理、下村真菜美、水野正一、中面哲也 第24回日本バイオセラピー学会学術集会総会(和歌山)、2011年12月1日～2日
- 8) Identification of H2-K^b or -D^b restricted and glypican-3-derived CTL epitope peptide. 岩間達章、堀江和峰、吉川聡明、信岡大輔、下村真菜美、中面哲也 第40回日本免疫学会学術集会(千葉)、2011年11月27日～29日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

Glypican-3 由来ペプチドワクチンにより著明な臨床効果を示した 患者由来 PBMC を用いたペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞クローンの樹立と解析

研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

研究要旨

glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチン臨床第 I 相試験において、著明な臨床効果 (RECIST 判定にて PR と判定) を示した HLA-A*02:07 患者の末梢血単核球 (PBMC) から GPC3 特異的 CTL クローンを樹立し、解析した結果、この患者末梢血中にさまざまな functional avidity を持つ GPC3 特異的 CTL の存在が確認され、これらの CTL の中には、GPC3 を発現するがん細胞を傷害できる GPC3 特異的 CTL も存在することが明らかとなった。現在実施中の進行肝細胞がん患者を対象とした臨床試験でも、HLA-A*02:07 患者において著明な臨床効果がみられたため、この患者 PBMC からも CTL クローンを樹立し、機能解析を行っている。

A. 研究目的

当院で実施された進行肝細胞がん患者 33 例を対象とした GPC3 ペプチドワクチン臨床第 I 相試験において、HLA-A*02:07 の患者 1 例で著明な臨床効果 (RECIST 判定にて PR と判定) がみられた。この患者 PBMC から GPC3 特異的 CTL クローンを樹立し、解析することを目的とした。

B. 研究方法

GPC3 ペプチドワクチン投与により著明な臨床効果がみられた HLA-A*02:07 患者 PBMC を GPC3 ペプチド、IL-2、IL-15 で刺激培養し、14 日後、CD107a single cell sorting によってクローンを樹立した。樹立したクローンは、IFN- γ ELISPOT アッセイや細胞傷害性試験、ペプチドタイトレーションアッセイにより評価した。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

ペプチドパルスタターゲットを用いた、IFN- γ ELISPOT アッセイと細胞傷害性試験の結果、樹立した CTL クローンが GPC3 ペプチド特異性を持つことが示された。ペプチドタイトレーションアッセイを行った結果、樹立したクローン間で functional

avidity に差がみられた。さらに、GPC3 陽性細胞株に HLA-A*02:07 遺伝子を導入した細胞株を用いた IFN- γ ELISPOT アッセイと細胞傷害性試験を行った結果、樹立した GPC3 特異的 CTL クローンはそれぞれがもつ functional avidity に応じた IFN- γ 産生と細胞傷害能をもつことが確認された。TCR β chain 遺伝子配列のシークエンス解析も行い、これらのクローンは異なる TCR 遺伝子を持つことが確認された。

D. 考察

ペプチドワクチン投与によって著明な臨床効果がみられた患者 PBMC から樹立した GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンをを用いた解析により、この患者末梢血中に GPC3 発現がん細胞株を傷害できる CTL の存在が明らかとなった。この患者はワクチン後に腫瘍の生検も行っており、免疫組織化学染色法によって、GPC3 と MHC class I の発現確認と、CD8 陽性細胞の腫瘍組織への浸潤を確認している。この浸潤した CD8 陽性細胞が GPC3 特異的 CTL であるかの確認が今後の課題である。

E. 結論

GPC3 ペプチドワクチン投与により著明な臨床効果がみられた患者末梢血中には、さまざまな functional avidity を持つ GPC3 特異的 CTL の存在が確認され、これらの CTL の中には、GPC3 を発現するがん細胞を傷害できる GPC3 特異的 CTL も存在することが明らかとなった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし

2. 学会発表

- 1) Glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチンにより著明な臨床効果を示した患者由来PBMCを用いたペプチド特異的細胞傷害性T細胞クローンの樹立、多田好孝、吉川聡明、下村真菜美、白川博文、信岡大輔、澤田雄、中面哲也 第39回日本臨床免疫学会総会(東京)、2011年9月15～17日
- 2) Glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチンにより著明な臨床効果を示した患者由来PBMCを用いたペプチド特異的細胞傷害性T細胞クローンの樹立、多田好孝、吉川聡明、下村真菜美、白川博文、信岡大輔、澤田雄、中面哲也 第40回日本免疫学会学術集会(千葉)、2011年11月27日～29日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

GPC3 ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞移入療法の開発

研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

研究要旨

新規 CTL 誘導法により、簡便な方法で少量の採血量から細胞移入療法を行う数の CTL を誘導することが可能となった。細胞の増加率には個人差がみられたが、培養前の PBMC の情報から培養後得られる CTL 数を予測出来る可能性が見込まれた。NOD/Scid マウスを用いた *in vivo* 試験において、GPC3 特異的 CTL と $\gamma\delta$ T 細胞、それぞれに起因する抗腫瘍効果が確認された。健常人 PBMC を使用して検討した結果、CD2/CD3/CD28 マイクロビーズの刺激や Day7 で CD8⁺細胞を単離して行うことは CTL 誘導効率や大量培養の効率を向上させた。また、これまでに樹立した GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンの T 細胞受容体 (TCR) 遺伝子を単離しており、TCR 遺伝子導入細胞移入療法へ向けた検討も行っている。

A. 研究目的

がん患者に対する抗原特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) 移入療法は、メラノーマ患者などに対して多くの有効例が報告されており、最も強力ながん免疫療法と考えられているが、がん抗原特異的 CTL の誘導や大量培養は多くの場合困難であることなどいくつかの課題も残されており、これまでのところ全ての患者に行える治療法ではない。

そこで、抗原特異的 CTL 移入療法の臨床応用を目指し、ペプチド特異的な CTL を効率良く誘導する培養方法を確立すること、及び、免疫不全マウスを用いて、ペプチド特異的 CTL のがんに対する治療効果を実証することを目的とした。

B. 研究方法

GPC3 ペプチドワクチン投与患者末梢血単核球 (PBMC) を使用し、新規 CTL 誘導法により GPC3 ペプチド特異的 CTL を誘導した。誘導された CTL を Dextramer アッセイ、IFN- γ ELISPOT アッセイ、細胞傷害性試験により評価した。NOD/Scid マウス 1 匹につき両側に肝癌細胞株 SK-Hep-1/hGPC3 (SK/hG) と SK-Hep-1/vec (SK/vec) を移植し、誘導されたエフェクター細胞を 2 回尾静脈投与し、腫瘍径を測定した。エフェクター細胞としては、CTL クローン、誘導された細胞 (a11)、誘導された細胞中の CD8⁺T 細胞のみ、誘導された細胞から CD8⁺T 細胞を除いた CD8⁻群、コントロールとして PBS を使用した。

また、健常人 PBMC を使用し、サイトメガロウイルス (CMV) ペプチド特異的 CTL の誘導に関して条件検討を行い、CTL 誘導効率、培地使用量、培養後の細胞の分化段階について解析した。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた

研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

さらに動物実験に際しては、各施設の動物実験指針を遵守し、動物愛護にも留意して研究を遂行するよう努めている。

C. 研究結果

GPC3-Dextramer アッセイにより GPC3 ペプチドワクチン投与患者 7 名 11 検体の少量の PBMC (2×10^6 個) から GPC3 ペプチド特異的 CTL が誘導可能である (1.8×10^5 個 $\sim 6.1 \times 10^7$ 個, 増加率: 490 倍 $\sim 170,000$ 倍) ことが確認された。培養後の細胞を GPC3 ペプチド特異的 CTL を含む CD8⁺細胞と、 $\gamma\delta$ T 細胞を含む CD8⁻細胞とに分け細胞傷害性試験を行った結果、CD8⁺細胞では GPC3 特異的細胞傷害能が認められ、CD8⁻細胞では抗原特異性はなく高率に肝癌細胞株を傷害した。さらに細胞ソーティングにより GPC3 CTL クローンの作製に成功しており、細胞傷害活性等の機能評価に用いることができた。*in vivo* 試験において、NOD/Scid マウスの系で CTL の抗腫瘍効果を評価した結果、GPC3 特異的 CTL と $\gamma\delta$ T 細胞、それぞれに起因する抗腫瘍効果が確認できた。また培養前の PBMC の情報から細胞の増え方の予測が可能となる因子の探索を行った。培養前の *ex vivo* ELISPOT アッセイによる GPC3 ペプチド特異的 IFN γ 産生細胞数と培養後得られた GPC3 ペプチド特異的 CTL の数との間に相関性が確認された。

健常人 PBMC を使用し、CMV ペプチド特異的 CTL の誘導に関して条件検討を行った結果、本培養法に

CD2/CD3/CD28 マイクロビーズの刺激を加えることで、CMV ペプチド特異的 CTL 数はこれまでより 2 倍以上増加し、さらに分化段階の若いナイーブやセントラルメモリーの細胞が多く誘導された。また、Day7 で CD8⁺細胞を単離して培養を続けることで、培地使用量は約 4 分の 1 でこれまでと同数の CMV ペプチド特異的 CTL が誘導された。

D. 考察

新規 CTL 培養法により、簡便な方法で細胞移入療法を行う数の CTL を誘導できる可能性が見込まれた。これまで *in vitro* での GPC3 ペプチド特異的 CTL の誘導は困難であったが、今回用いたワクチン投与後の患者 PBMC からは、比較的容易に誘導可能であり、GPC3 ペプチドワクチンと CTL 療法を組み合わせ合わせた治療により、多くの患者に適応可能になると考えられた。今回行った新規 CTL 誘導法においても、細胞の増加率には個人差があるが、培養前の PBMC から予測できる可能性が見込まれた。今後細胞が増殖しにくい患者に対して細胞が増殖する培養条件を検討し、培養前の予測と至適培養条件を組み合わせるオーダーメイド細胞療法を確立することにより、より多くの患者に適応できる治療につながる可能性があると考えられる。

また、実際の培養スケールを想定し健常人 PBMC を使用して検討した結果、CD2/CD3/CD28 マイクロビーズの刺激や Day7 で CD8⁺細胞を単離して行うことは CTL 誘導効率や大量培養の効率を向上させた。さらに分化段階の若い細胞を移入することは移入後体内での長期生存が見込まれる。

さらに、別の研究として行っている TCR 遺伝子導入細胞移入療法については、GPC3 ペプチドワクチン投与患者 PBMC から HLA-A2⁺, GPC3⁺癌細胞株を傷害し得る GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンを複数樹立した。現在、CTL クローンからの TCR 遺伝子のクローニング、レトロウイルスベクターへの組み込みが完了し、健常人 PBMC への導入と TCR 再構築の確認を行っており、TCR 遺伝子導入細胞移入療法へ向けた検討を行っている。

E. 結論

新規 CTL 誘導法、及び TCR 遺伝子導入細胞移入療法より、多くの患者に適応できる CTL 療法が開発可能となる見込みを得た。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Yoshikawa T, Nakatsugawa M, Suzuki S, Shirakawa H, Nobuoka D, Sakemura N, Motomura Y, Tanaka Y, Hayashi S, Nakatsura T. HLA-A2-restricted glypican-3 peptide-specific CTL

clones induced by peptide vaccine show high avidity and antigen-specific killing activity against tumor cells. *Cancer Sci.* 102(5):918-25, 2011.

2. 学会発表

- 1) Establishment of high avidity CTL clones induced by HLA-A2 restricted glypican-3 (GPC3) peptide vaccine. Yoshikawa Toshiwaki, Suzuki Shiro, Nakatsugawa Munehide, Shirakawa Hirofumi, Nobuoka Daisuke, Sakemura Noriko, Motomura Yutaka, Nakatsura Tetsuya. AACR 102nd Annual Meeting 2011 (Orlando), Apr.2-6,2011.
- 2) ゼレドロン酸を使用したペプチド特異的CTLの大量培養法の検討、吉川聡明、高原将司、富山舞、黒田あゆみ、白川博文、信岡大輔、澤田雄、酒村智子、多田好孝、岩間達章、藤浪紀洋、小林裕太、本吉正、増田昌子、須貝詩織、贅田美江、前川隆司、中面哲也 第15回日本がん免疫学会総会（大阪）、2011年6月30～7月1日
- 3) Glypican-3ペプチド特異的CTLの大量培養法の検討、吉川聡明、高原将司、富山舞、黒田あゆみ、白川博文、信岡大輔、澤田雄、酒村智子、贅田美江、前川隆司、中面哲也 第39回日本臨床免疫学会総会（東京）、2011年9月15～17日
- 4) ゼレドロン酸を使用したペプチド特異的CTLの大量培養法の検討、吉川聡明、白川博文、信岡大輔、澤田雄、酒村智子、前川隆司、中面哲也 第70回日本癌学会学術総会（名古屋）、2011年10月3日～5日
- 5) T細胞移入療法を目指したGlypican-3ペプチド特異的CTLの大量培養法の検討、吉川聡明、高原将司、富山舞、黒田あゆみ、白川博文、信岡大輔、澤田雄、酒村智子、贅田美江、前川隆司、中面哲也 第40回日本免疫学会学術集会（千葉）2011年11月27日～29日
- 6) 細胞療法の実現化に向けたゼレドロン酸を使用したGlypican-3(GPC3)ペプチド特異的CTLの大量培養法の開発、吉川聡明、高原将司、富山舞、黒田あゆみ、白川博文、信岡大輔、澤田雄、酒村智子、贅田美江、前川隆司、中面哲也 第24回日本バイオセラピー学会学術集会総会（和歌山）、2011年12月1～2日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得 なし
2. 実用新案登録 なし
3. その他 なし

H2-K^bまたは H2-D^b 拘束性 glypican-3 由来 CTL エピトープペプチドの同定

研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

研究要旨

GPC3 を標的とした免疫療法の応用として、肝がんの治療法あるいは再発予防や発症予防法の開発が求められている。それらの前臨床試験を行うために、ペプチドワクチンによって GPC3 特異的 CTL を誘導できるマウスモデルを確立しようと試みた。その際に、CTL を誘導可能な、かつがん細胞によって内在的に提示されているペプチドを同定する必要がある。本研究により、H2-K^bまたは H2-D^b 拘束性 glypican-3 由来 CTL エピトープペプチドを同定し、このエピトープペプチドを同定したことにより、ペプチドワクチンによる発症予防効果や、GPC3 を標的とした免疫療法と他の療法との併用効果について検討することが可能となると見込まれる。

A. 研究目的

HCC を対象とした GPC3 由来ペプチドワクチン臨床試験が行われており、これまでに安全性と免疫学的有効性が認められ、一部の患者では臨床効果も認められている。本研究では、さらに GPC3 を標的とした免疫療法の応用として、肝がんの治療あるいは再発予防効果や発症予防効果を解析する前臨床試験を行うために、ペプチドワクチンによって GPC3 特異的 CTL を誘導できるマウスモデルを確立しようと試みた。ペプチドワクチンを行う際に、CTL を誘導可能なペプチドが必要であり、さらに、がん細胞によって内在的に提示されている必要がある。本研究では、そのペプチドのアミノ酸配列を同定することを目的とした。

B. 研究方法

BIMAS software によりマウス GPC3 アミノ酸配列から H2-K^bまたは H2-D^b に対して結合しうると予測された 11 種のペプチドを選別し、それらのペプチドが実際に結合するかを *in vitro* cellular binding assay により評価した。これらのペプチドの抗原性を評価するために、C57BL/6 マウスに 11 種類混合でのペプチドワクチンと単独でのペプチドワクチンを 1 週間毎に 2 回投与した。ワクチン投与後 CD8⁺細胞を単離し、各ペプチドの CTL 誘導能を IFN- γ ELISPOT assays にて評価した。GPC3-1 ペプチド特異的 CTL ラインを樹立し、内在的に GPC3 を発現する RMA GPC3-puro に対する反応性を解析した。

[倫理面への配慮]

動物実験に際しては、各施設の動物実験指針を遵守し、動物愛護にも留意して研究を遂行するよう努めている。

C. 研究結果

選別した 11 種のペプチドは、H2-K^b と H2-D^b に対して結合することが確認できた。次に、各ペプチドの CTL 誘導能を IFN- γ ELISPOT assays にて評価した結果、mGPC3-1 ペプチドワクチン投与により、最も高率に特異的 CTL が誘導された。mGPC3-1 特異的 CTL ラインは、GPC3 強制発現株 RMA-GPC3-puro を認識し IFN- γ を放出したことから、mGPC3-1 が GPC3 発現がん細胞によって内因性に提示されるペプチドであることが示唆された。

D. 考察

今回、ペプチドワクチンによりエピトープペプチドが同定されたことから、ペプチドワクチンによる CTL 誘導マウスモデルが確立できた。同定の際に用いた C57BL/6 マウスと同じバックグラウンドを持つ肝がん自然発症モデルマウスを用いることによって、肝がんの発症予防効果に対する前臨床研究が行えることが見込まれる。

また、C57BL/6 マウスを用いた、GPC3 を標的とする免疫療法と他の療法（化学療法、放射線療法等）の併用効果を検証することが考えられる。この際に、mGPC3 を発現しており、H2-K^b と H2-D^b を発現しているがん細胞が必要となる。今後課題として、このようながん細胞の樹立が挙げられる。

E. 結論

H2-K^b または H2-D^b 拘束性 GPC3 由来エピトープペプチドとして mGPC3-1₁₂₇₋₁₃₆ (AMFKNNYPSL) を同定した。

F. 研究発表

1. 論文発表 なし

2. 学会発表

- 1) Identification of H2-K^b or -D^b restricted and glypican-3-derived CTL epitope peptide、岩間達章、堀江和峰、吉川聡明、信岡大輔、下村真菜美、中面哲也 第40回日本免疫学会学術集会(千葉) 2011年11月27日～29日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

ペプチド特異的免疫療法の効果増強を目指したペプチド腫瘍内注入

研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

研究要旨

がんに対するペプチド特異的免疫療法の効果を増強するための方法の開発が求められている。われわれはがん細胞表面の HLA class I に載ったペプチドの密度が多く患者で十分に高くはないことに注目し、標的細胞であるがん細胞の抗原性を高めることができれば、ペプチド特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が効率よくがんを集積してがん細胞がこれら CTL に殺傷されやすい状況が作り出せると考えた。本研究では、*in vitro* ではがん細胞にペプチドパルスを行うことにより、*in vivo* では腫瘍を穿刺してペプチド溶液を注入することにより、CTL 反応や抗腫瘍効果が生じることが示された。さらに、ペプチド溶液を腫瘍内に注入して治療することにより、抗原 spreading が誘導されて他の腫瘍にも抗腫瘍効果が生じることが確認された。また、肝臓の場合、癌細胞よりも非癌部肝細胞における HLA class I の発現は低く、腫瘍を外れて腫瘍周囲に広がったペプチド溶液は非癌部肝細胞の HLA class I 上に提示されにくいことが示唆された。本法は免疫療法の特異性をさらに増強させる方法であり、がんの個別化治療におけるオプションの一つとして癌免疫療法のブレイクスルーに貢献する可能性を秘めた新戦略と考えている。

A. 研究目的

がんに対する特異的免疫療法は、安全で有効な新規抗がん療法として大いに注目されている分野であるが、まだまだ有効性のエビデンスに乏しい。より強い臨床効果を導くために、今後は免疫療法の効果を増強するための研究が重要であると考えられる。

がん細胞表面の HLA class I に載ったペプチドの密度が高ければ高いほどペプチド特異的 CTL の殺傷能力が増すことがわかっているが、患者によってがん細胞表面の HLA class I に提示されているペプチドの密度は様々であり、しかも多くの患者では十分に高くはないと考えられている。本研究では、標的細胞であるがん細胞の抗原性を高め、細胞傷害性 T 細胞 (CTL) が効率よくがんを集積してがん細胞がこれら CTL に殺されやすい状況を作り出すことに焦点を絞り、『ペプチドを腫瘍内へ局所投与することにより、がん細胞表面のペプチドの密度を高めることができれば、ペプチド特異的 CTL が効率よくがんを集積し、殺傷能力が高まる。』という仮説のもとに基礎研究を行った。

B. 研究方法

まず *in vitro* において、標的細胞にペプチドをパルスすることによりペプチド特異的 CTL の反応が高まることを IFN γ ELISPOT 法および細胞傷害性試験により確認した。

続いて、腫瘍を穿刺して内部に注入したペプチドががん細胞表面上の HLA class I 上に載ることを確

認するために、免疫不全マウスに接種したがん細胞株の皮下腫瘍内部にペプチド溶液を注入し、その後腫瘍を摘出、がん細胞を分散単離して IFN γ ELISPOT 法を行った。

また、免疫不全マウスの皮下腫瘍にペプチドを注入し、その後ペプチド特異的 CTL を注入して腫瘍の増殖に与える影響について観察した。

続いて、よりペプチド特異的免疫療法を受けている患者の状態に近いモデルとして、C57BL/6 マウスに ovalbumin (OVA) のペプチドワクチンあるいは CTL 移入療法を行ったうえで、OVA 非発現がん細胞株の皮下腫瘍に対する OVA ペプチド腫瘍内注入の抗腫瘍効果と副作用につき観察した。

さらに、上記の CTL 移入療法モデルにおいて、抗原 spreading が誘導されることを確認するために、2つの腫瘍を異時性に接種して接着状況を観察した。

また、肝細胞癌切除検体より採取した肝細胞癌の細胞および非癌部間組織の細胞を採取し、ペプチドパルス後のペプチド提示状況を観察した。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

さらに動物実験に際しては、各施設の動物実験指針を遵守し、動物愛護にも留意して研究を遂行するよう努めている。

C. 研究結果

ELISPOT 法および細胞傷害性試験にて、GPC3 非発現がん細胞株に対しては GPC3 ペプチド特異的 CTL は反応を示さないが、がん細胞株にペプチドパルスを行った後では強い CTL 反応が確認された。一方、GPC3 発現がん細胞株に対してはペプチドパルス前でもある程度の CTL 反応が確認されたものの、ペプチドパルス後にはそれが著明に増強した。この結果は CMV ペプチドと CMV ペプチド特異的 CTL クローンを用いても同様に観察された。

免疫不全マウスに接種したがん細胞株の皮下腫瘍に GPC3 あるいは CMV ペプチド溶液の腫瘍内注入を行い、その後摘出して採取した腫瘍細胞をターゲットに ELISPOT 法を行い、腫瘍を穿刺して内部に注入したペプチドががん細胞表面上の HLA class I 上に載ることが確認された。

また、ペプチド注入後に CTL も注入することで腫瘍増殖抑制効果が確認された。

C57BL/6 マウスを用いたペプチドワクチンモデルおよび CTL 移入療法モデルでは、ペプチド腫瘍内注入群の腫瘍増殖抑制効果と生存延長効果が示され、一方、副作用は確認されなかった。

さらに、治療したものは別の腫瘍に対する抗原 spreading の効果も観察された。

また、肝細胞癌細胞よりも非癌部肝細胞における HLA class I の発現が低く、腫瘍を外れて腫瘍周囲に広がったペプチド溶液は非癌部肝細胞の HLA class I 上に提示されにくいことが示唆された。

D. 考察

ペプチドを腫瘍内に注入することで、がん細胞表面上の HLA class I 上に提示されるペプチドの密度が増加し、がん細胞がペプチド特異的 CTL に殺傷されやすくなることが示された。さらに、ペプチド腫瘍内注入により全身の免疫反応が活性化され、ペプチドを注入しない腫瘍に対しても抗原 spreading に伴う抗腫瘍効果が生じることが確認された。

E. 結論

ペプチド腫瘍内注入は、将来的にペプチド特異的免疫療法の効果を増強する治療オプションとなる可能性を秘めた新戦略と考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし

2. 学会発表

- 1) 抗原特異的免疫療法の効果増強を目指した基礎研究：ペプチド腫瘍内注入、信岡大輔、吉川聡明、高橋真理、岩間達章、堀江和峰、下村真菜美、鈴木史朗、酒村智子、中津川宗秀、八木孝仁、藤原俊義、中面哲也 第 15 回日本がん免疫学会総会（大阪）、2011 年 6 月 30 日～7 月 1 日
- 2) ペプチド特異的免疫療法の効果増強を目指したペプチド腫瘍内注入、信岡大輔、吉川聡明、高橋真理、岩間達章、堀江和峰、下村真菜美、鈴木史朗、酒村智子、中津川宗秀、八木孝仁、藤原俊義、中面哲也 第 70 回日本癌学会学術総会（名古屋）、2011 年 10 月 3 日～5 日
- 3) ペプチド特異的免疫療法の効果増強を目指したペプチド腫瘍内注入、信岡大輔、吉川聡明、高橋真理、岩間達章、堀江和峰、下村真菜美、鈴木史朗、酒村智子、中津川宗秀、澤田雄、八木孝仁、藤原俊義、中面哲也 第 24 回日本バイオセラピー学会学術集会総会（和歌山）、2011 年 12 月 1 日～2 日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

卵巣明細胞腺がんに対する HLA-A24 および-A2 結合性 GPC3 由来 ペプチドワクチン療法の臨床第Ⅱ相試験

研究分担者 吉川 史隆 名古屋大学大学院医学系研究科 産婦人科 教授
研究代表者 中面 哲也 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長

研究要旨

GPC3 を発現する悪性卵巣腫瘍に対する GPC3 ペプチドワクチンの臨床第Ⅱ相試験において科学的エビデンスを創出しうするためには、卵巣がん標準治療をふまえたプロトコールが必要である。2010年6月より名古屋大学医学部附属病院において、①初回治療終了後、臨床的寛解が得られている寛解群、②初回治療後の残存腫瘍に対して Second-line 化学療法を予定されている非寛解群、③今後化学療法施行予定のない再発・進行群の3群を対象とした「卵巣明細胞腺がんに対する HLA-A24 および-A2 結合性 Glypican-3 (GPC3)由来ペプチドワクチン療法の臨床第Ⅱ相試験」をスタートさせており、症例登録が徐々に進んでいる。肝細胞がんに対する GPC3 ペプチドワクチンの臨床試験と同様に、卵巣明細胞腺がん患者においても Ex vivo IFN γ ELISPOT アッセイを用いた免疫学的モニタリングにてワクチン投与前に比べ、ワクチン投与後で GPC3 特異的 CTL が末梢血中に増加していることおよび安全性が確認できつつある。

A. 研究目的

卵巣明細胞腺がんに対する HLA-A24 および-A2 結合性 GPC3 由来ペプチドワクチン療法の臨床第Ⅱ相試験において、ペプチドワクチンを投与された卵巣明細胞腺がん患者における免疫学的モニタリングおよび臨床経過から、その有用性につき評価した。また、本臨床試験に参加した HLA-A2402 陽性患者2名の末梢血単核球 (PBMC) から GPC3 ペプチド特異的 CTL のクローン樹立を試みた。

B. 研究方法

卵巣明細胞腺がん患者のうち、①初回治療終了後、臨床的寛解が得られている寛解群、②初回治療後の残存腫瘍に対して Second-line 化学療法を予定されている非寛解群、③今後化学療法施行予定のない再発・進行群の3群を対象とした臨床第Ⅱ相試験を施行中である。投与スケジュールは初回から6回投与までが2週毎、7回目以降は6週毎ワクチン投与となっている。2012年1月末までにペプチドワクチンを投与された卵巣明細胞腺がん患者は20症例で、そのうち17例（寛解群12例、化学療法併用群1例および進行群4例）における免疫学的モニタリングを Ex vivo IFN- γ ELISPOT assay (GPC3 ペプチド特異的 spot 数 / PBMC 5×10^5) にて行った。

また、HLA-A*24:02 陽性であった進行群患者2名のワクチン投与後 PBMC を GPC3 ペプチドと IL-2 および IL-15 で刺激し、GPC3 ペプチド特異的 CTL の誘導を試みた。FACS Aria を使用して GPC3-Dextramer 陽性 CD8 陽性細胞をシングルセルソートすることにより CTL クローンを作製した。

CTL クローンの機能解析として、GPC3-Dextramer 再解析および IFN- γ ELISPOT assay を行った。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は名古屋大学医学部の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

ペプチドワクチンを投与された卵巣明細胞腺がん患者における Ex vivo IFN γ ELISPOT アッセイを用いた免疫学的モニタリングにて17症例中16症例（寛解群11例、化学療法併用群1例および進行群4例）においてワクチン投与前に比べ、ワクチン投与後で GPC3 特異的 CTL が末梢血中に増加していることが確認できた。TC (パクリタキセル+カルボプラチン) 療法と併用された1例のみではあるが、免疫抑制作用のある化学療法併用群においても GPC3 特異的 CTL が誘導された結果が確認できた。現在までの登録症例は20例とまだ少数例ではあるが、注射部局所の発赤や硬結は全例にみられたものの、投与中止基準に相当する Grade4 のような重篤な非血液有害事象の発生は1例もみられなかった。

2012年1月末時点で、寛解群（ワクチン投与計10回のプロトコール終了7例およびワクチン投与

中6例)の平均観察期間は7.6か月とまだ短いものの、全例において再発は認められていない。進行群5例中1例で、治療開始3か月時点でPRの臨床効果(肝転移、傍大動脈および右外腸骨リンパ節転移の縮小あり、新規病変なし)を認めた。また、この症例を含み進行群5例中3例で、ワクチン投与前に比べ腫瘍マーカーの低下がみられた。

HLA-A*24:02陽性であった進行群患者2名のワクチン投与後PBMCからのGPC3ペプチド特異的CTL誘導ではそれぞれの患者のPBMCから12個および10個のクローンが樹立された。樹立された22個のCTLクローンは、すべてDextramerを用いたFACS再解析で、ほぼ100%GPC3デキストラマー陽性のGPC3ペプチド特異的CD8陽性キラーT細胞であり、GPC3ペプチドをパルスした標的細胞(T2細胞)に対してIFN γ ELISPOTアッセイにおいても明らかなGPC3ペプチド特異性が認められた。

D. 考察

現在までの登録症例は20例と少数例ではあるが、卵巣明細胞腺がん患者においても安全性および免疫学的有効性が確認できつつある。1例のみではあるが、卵巣がんの標準的化学療法レジメンであるTC療法とGPC3ワクチン療法との併用症例においてもGPC3特異的CTLが誘導された結果が確認でき、他のレジメンを含めさらなる症例の蓄積および検証が望まれる。基礎研究では、軽度の増殖抑制はおこすもののアポトーシスはきたさない程度のsubtoxicな用量であっても、抗がん剤による前治療を併用することでCTLによる細胞傷害効果の上乗せがみられる細胞傷害性試験の結果を得ていることから、臨床試験を通して併用によって有効性が期待できる抗がん剤の種類やその機序を解析していきたい。HLA-A2拘束性GPC3ペプチド特異的CTLクローンについては高親和性であるものが樹立されているのに比べ、HLA-A24結合性GPC3ペプチドに対して高親和性であるCTLクローンがこれまでに樹立されていないため、ワクチン投与卵巣明細胞腺がん患者のPBMCを用いるといった工夫をして、よりよいHLA-A24拘束性GPC3ペプチド特異的CTLクローンの樹立を今後も計画する。

E. 結論

肝細胞がんに対するGPC3ペプチドワクチンの臨床試験と同様に、卵巣明細胞腺がん患者においてもほぼ全例において免疫学的モニタリングにてワクチン投与前に比べ、ワクチン投与後でGPC3特異的CTLが末梢血中に増加していることが確認でき、安全性についても確認できつつある。1症例のみで短期間ではあるがワクチン投与中に臨床効果が得られた進行群症例が出現した。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kajiyama H, Shibata K, Mizuno M, Nawa A, Mizuno K, Matsuzawa K, Kawai M, Hosono S, Nagasaka T, Kikkawa F. Fertility-sparing surgery in young women with mucinous adenocarcinoma of the ovary. *Gynecol Oncol.* 122(2):334-338, 2011.
- 2) Hirose T, Torikai H, Yanagisawa M, Kamei M, Imahashi N, Demachi-Okamura A, Tanimoto M, Shiraiishi K, Ito M, Miyamura K, Shibata K, Kikkawa F, Morishima Y, Takahashi T, Emi N, Kuzushima K, Akatsuka Y. Mismatched human leukocyte antigen class II-restricted CD8⁺ cytotoxic T cells may mediate selective graft-versus-leukemia effects following allogeneic hematopoietic cell transplantation. *Cancer Sci.* 102(7):1281-1286, 2011.
- 3) Suzuki S, Yoshikawa T, Hirose T, Shibata K, Kikkawa F, Akatsuka Y, Nakatsura T. Glypican-3 could be an effective target for immunotherapy combined with chemotherapy against ovarian clear cell carcinoma. *Cancer Sci.* 102(9):1622-1629, 2011.
- 4) Higashi M, Kajiyama H, Shibata K, Mizuno M, Mizuno K, Hosono S, Kawai M, Nakanishi T, Nagasaka T, Kikkawa F. Survival impact of capsule rupture in stage I clear cell carcinoma of the ovary in comparison with other histological types. *Gynecol Oncol.* 123(3):474-478, 2011.
- 5) Kajiyama H, Shibata S, Suzuki S, Ino K, Kawai M, Nagasaka T, Nawa A, Kikkawa F. Survival impact of adjuvant paclitaxel and carboplatin for early stage ovarian clear-cell carcinoma with complete surgical staging. *Gynecol Obstet Invest.* 72(4):252-6, 2011.
- 6) Hosono S, Kajiyama H, Mizuno K, Sakakibara K, Matsuzawa K, Takeda A, Kawai M, Nagasaka T, Kikkawa F. Comparison between serous and non-serous ovarian cancer as a prognostic factor in advanced epithelial ovarian carcinoma after primary debulking surgery. *Int J Clin Oncol.* 16(5):524-32, 2011.
- 7) Sekiya, R, Kajiyama, H, Sakai K, Umezu T, Mizuno M, Shibata K, Yamamoto E, Fujiwara S, Nagasaka N, Kikkawa F. Expression of CXCR4 Indicates Poor Prognosis in Patients with Clear Cell Carcinoma of the Ovary. *Hum Pathol.* Dec 12, 2011.

- 8) Kajiyama H, Shibata K, Mizuno M, Umezu T, Suzuki S, Nawa A, Kawai M, Nagasaka T, Kikkawa F. Long-term survival of young women receiving fertility-sparing surgery for ovarian cancer in comparison with those undergoing radical surgery. *Brit J Cancer.* 105(9):1288-1294, 2011.
- 9) Kajiyama H, Shibata K, Mizuno M, Hosono S, Kawai K, Nagasaka T, Kikkawa F. Fertility-sparing surgery in patients with clear-cell carcinoma of the ovary: is it possible? *Hum Reprod.* 26(12): 3297-302, 2011.
- 10) Mitsui H, Shibata K, Suzuki S, Umezu T, Mizuno M, Kajiyama H, Kikkawa F. Functional interaction between peritoneal mesothelial cells and stem cells of ovarian yolk sac tumor in peritoneal dissemination. *Gynecol Oncol.* 124(2):303-10,2011.
- 11) Maeda O, Shibata K, Hosono S, Fujiwara S, Kajiyama H, Ino K, Nawa A, Tamakoshi K, Kikkawa F. Spectrin α II and β II tetramers contribute to platinum anticancer drug resistance in ovarian serous adenocarcinoma. *Int J Cancer.* 130(1):113-121, 2012.

2. 学会発表

- 1) 卵巣明細胞腺がんにおけるGlypican-3ペプチドワクチン療法の基礎的検討、鈴木史朗、柴田清住、山田英里、関谷龍一郎、松村寛子、堀尾麻衣子、梅津朋和、水野美香、梶山広明、那波明宏、吉川聡明、中面哲也、吉川史隆 第50回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(札幌)、2011年7月22日～24日
- 2) 卵巣明細胞腺がんに対するGPC3由来ペプチドワクチン療法の可能性、鈴木史朗、吉川聡明、廣澤友也、柴田清住、吉川史隆、中面哲也 第70回日本癌学会学術総会(名古屋)、2011年10月3日～5日
- 3) 婦人科癌に対する特異的癌免疫療法—明細胞腺癌を対象としたGPC3特異的ペプチドワクチン療法の第I, II相臨床試験、柴田清住、鈴木史朗、廣澤友也、梶山広明、梅津朋和、中面哲也、吉川史隆 第70回日本癌学会学術総会(名古屋)、2011年10月3日～5日
- 4) Glypican-3は卵巣明細胞腺がんに対して有効な免疫療法のターゲットとなりうる～抗癌剤併用療法の可能性について～、鈴木史朗、吉川聡明、柴田清住、吉川史隆、中面哲也 第24回日本バイオセラピー学会学術集会総会(和歌山)、2011年12月1～2日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

小児がんを対象としたペプチドワクチン療法の開発

研究代表者	中面 哲也	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長
研究分担者	中川原 章	千葉県がんセンター センター長
	原 純一	大阪市立総合医療センター 副院長
	真部 淳	聖路加国際病院 小児科 医長
	塩田 曜子	国立成育医療研究センター 腫瘍科 医員
	金森 豊	国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 医長
	木下 義晶	九州大学大学院医学研究院 小児外科分野 准教授
	孝橋 賢一	九州大学大学院医学研究院 形態機能病理学 助教
	細野 亜古	国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 医長
	吉村 健一	京都大学医学部附属病院 探索医療センター検証部 特定助教

研究要旨

GPC3 は小児がんにおいては肝芽腫、腎芽腫、卵黄嚢腫瘍などで発現している。各種小児がんに対する GPC3 由来ペプチドワクチン療法の臨床第 I 相試験の研究計画書は、国立がん研究センター倫理審査委員会、参加施設である大阪市立総合医療センター、聖路加国際病院で承認され、多施設で臨床試験をスタートしている。現在参加施設から寄せられている臨床試験参加希望患者の未染色標本で GPC3 免疫染色を行い、適格患者のリクルートを行っている。

A. 研究目的

GPC3 は、まず肝細胞がんの特異的に高発現することが同定されたがん胎児性抗原であるが、その後の研究において、悪性黒色腫、小児がん、肺扁平上皮がんなどでも発現することが報告されてきている。本研究は希少性の高い各種小児がん（特に高発現している肝芽腫、腎芽腫、卵黄嚢腫瘍など）を対象に、有効性の高いがんペプチドワクチン療法の実用化に向けた臨床研究を実施することにより、日本発のがんワクチン療法による革新的がん治療の開発を目的とする。

また、GPC3 ペプチドワクチンは肝細胞がん患者に対する臨床第 I 相試験を行い、成人患者への安全性・投与量はほぼ確立しているが、小児患者においては安全性や至適用量の確認がされていない。本研究では、小児がんを対象に GPC3 がんペプチドワクチンの第 I 相試験を実施・完了し、科学的エビデンスを創出する。

B. 研究方法

以下の試験を計画し、今年度患者登録を開始した。

各種小児がんに対する HLA-A24 および-A2 結合性 Glypican-3 (GPC3)由来ペプチドワクチン療法の臨床第 I 相試験

目的： 治癒が見込めない小児～若年成人期の固形腫瘍患者を対象に、Glypican-3 (GPC3)由来ペプチ

ドワクチンを接種する場合の安全性、および、特異的免疫に対するの用量反応性を検討する。

対象： 20 歳未満の再発小児固形腫瘍患者のうち、選択できる化学療法がなく、無治療の場合、（無増悪）生存期間中央値が 1 年未満である状態。

主要評価項目： DLT 評価可能症例における DLT 発生割合

副次的評価項目： 安全性の評価、毒性プロファイル、奏効割合、無増悪生存期間、全生存期間、免疫学的モニタリングによる末梢血 GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の頻度の増加の評価 等

試験デザイン： 多施設共同による臨床第 I 相試験。

治療方法： HLA のタイプにより、HLA-A24 結合性 GPC3 由来ペプチド (EYILSLEEL) または HLA-A2 結合性 GPC3 由来ペプチド (FVGEFFTDV) を用いる。2 週間に 1 回、プロトコール治療中止になるまで投与する。

検査： 安全性確認および CTL 誘導について外来受診毎に採血をおこなう。局所反応などの身体所見については患者日誌を利用した自記式調査を利用する。

試験実施施設： 臨床試験：国立がん研究センター中央病院、国立がん研究センター東病院、大阪市立総合医療センター、聖路加国際病院、九州大学病院、国立成育医療研究センター

がん抗原の発現の検査：九州大学

免疫学的モニタリング：国立がん研究センター東病

院

試験期間: 登録期間 3 年、追跡期間 2 年

制度対応: 試験を開始後 24 年度中に高度医療制度に申請し、将来的な薬事承認を目指す。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

本試験は研究代表者の施設である国立がん研究センターの他に大阪市立総合医療センター、聖路加国際病院の倫理審査委員会で承認され、今年度、試験を開始した。現在は臨床試験参加希望者の腫瘍未染色標本に対して GPC3 免疫染色を施行し適格患者リクルートを行っている。現在までに行った結果では、肝芽腫 10 例中 6 例、神経芽腫 39 例中 1 例、腎芽腫 30 例中 9 例、卵黄嚢腫瘍 11 例中 10 例、胞巣型横紋筋肉腫 2 例中 1 例、胎児型横紋筋肉腫 1 例中 0 例、未分化肉腫 4 例中 2 例、腭芽腫 1 例中 1 例、骨肉腫 5 例中 0 例が陽性であった。

D. 考察

今年度は小児がんにおける多施設 GPC3 ペプチドワクチン療法の臨床試験の実施体制を整え、参加施設における倫理委員会の承認を得られたため、試験を開始することが出来た。しかし、研究結果の項でも述べたように GPC3 は肝芽腫、胚細胞性腫瘍など一部の小児がんには免疫染色の陽性率は高いものの、全体の小児がんでは陽性率は低く、本臨床試験への適格症例は限られている。今後参加施設以外の小児がん治療施設への周知、患者会への情報提供を通し、強力な患者リクルートが必要である。

E. 結論

小児がん領域での GPC3 ペプチドワクチン療法第 I 相試験を開始した。今後強力な患者リクルートにより出来るだけ早期に試験を終了する。本試験の結果が期待される。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 中面哲也、国立がん研究センター東病院でのがんペプチドワクチン療法臨床試験の取り組み

(第7回DIA日本年会 グローバル開発における日本の役割・日本の貢献 大学・研究機関・企業での臨床試験の実際)、臨床医薬 27(5):313-321, 2011.

- 2) 澤田雄、中面哲也、ペプチドワクチンを用いた免疫療法 glypican-3(GPC3)由来ペプチドワクチン療法(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))、腫瘍内科 8(5):417-424, 2011.
- 3) 中面哲也、第9章 がん治療の新たな展開 治療法・治療装置の進歩 4. ペプチドワクチン療法、(先端医療シリーズ42) 消化器疾患の最新医療、先端医療技術研究所、p164-167, 2011.

2. 学会発表

- 1) glypican-3由来がんペプチドワクチン療法における多施設共同研究の現状と展望、中面哲也、吉川聡明、澤田雄、信岡大輔、水野正一、木下平、小西大、高橋進一郎、後藤田直人、光永修一、池田公史、鈴木史朗、柴田清住、吉川史隆、細野亜古、原純一、真部淳、塩田曜子、木下義晶、孝橋賢一 第24回日本バイオセラピー学会 学術集会総会(和歌山)、2011年12月1日~2日

G. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

悪性黒色腫を対象としたペプチドワクチン療法の開発

研究代表者	中面 哲也	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 機能再生室 室長
研究分担者	斎田 俊明	信州大学医学部 皮膚科 特任教授
	木庭 幸子	信州大学医学部附属病院 皮膚科 講師
	山崎 直也	国立がん研究センター中央病院 皮膚腫瘍科 科長
	尹 浩信	熊本大学大学院生命科学研究部 皮膚病態治療再建学分野 教授
研究協力者	松下 茂人	鹿児島大学大学院 皮膚科 講師
	福島 聡	熊本大学大学院生命科学研究部 皮膚病態治療再建学分野 講師

研究要旨

前年度までの検討より、GPC3 ペプチド特異的 CTL は GPC3 発現量の少ない悪性黒色腫細胞株に対しても弱いながらも反応することが示された。しかし、GPC3 タンパクの悪性黒色腫細胞での発現がはっきりしないこれまでの結果では積極的に GPC3 ペプチドワクチン単独での臨床試験への展開には進みにくいと考えられた。そこで今年度は新たな腫瘍抗原として KIF20A に着目した。悪性黒色腫細胞株を用いてウエスタンブロット、RT-PCR で解析したところ、すべての悪性黒色腫の細胞株において KIF20A の mRNA 並びにタンパク質の発現を確認できた。さらに患者検体を用いた免疫染色および RT-PCR による解析では、約 6 割の悪性黒色腫において KIF20A の発現があるという結果を得た。また KIF20A の発現と患者データを解析した結果、KIF20A は悪性黒色腫の進展や予後に関与しているとも考えられた。今後は、進行期の悪性黒色腫に対して KIF20A をターゲットとしたペプチドワクチンの臨床試験へとつなげていく予定である。

また、今後実際に臨床試験を行っていく上で、難治性希少疾患である悪性黒色腫には、対照とする本邦におけるヒストリカルデータとして十分なものが存在しないことが問題となる。そこで本研究班で進行期悪性黒色腫に対する現在の標準治療でのヒストリカルデータを作成した。

A. 研究目的

前年度までの検討より、GPC3 ペプチド特異的 CTL は GPC3 発現量の少ない悪性黒色腫細胞株に対しても弱いながらも反応することが示された。しかし、GPC3 タンパクの悪性黒色腫細胞での発現がはっきりしないこれまでの結果では積極的に GPC3 ペプチドワクチン単独での臨床試験への展開には進みにくいと考えられた。ペプチドワクチン療法は副作用が少ないため他のさまざまな療法との併用も期待される。肝細胞がんに対して GPC3 発現量の比較的低い悪性黒色腫については腫瘍抗原の発現回復や CTL による免疫応答増強を期待できるような併用療法や GPC3 以外の腫瘍抗原も標的とすることにより有用なペプチドワクチン療法の開発につながる可能性が考えられた。そこで、今年度は新たな腫瘍抗原としてすでに膀胱癌に対するペプチドワクチンとして実績のある KIF20A に着目した。

2011 年 Imai らは KIF20A を膀胱癌の新規癌抗原として見出し、CTL エピトープを同定。免疫療法のターゲットとなりうることを報告した。KIF20A は kinesin superfamily に属するモータータンパク質である。当初細胞内膜輸送に関わる Rab に結合する

タンパク質として同定され、ゴルジ装置から小胞体への膜輸送に関与し、また細胞分裂に重要な働きを示し、siRNA で KIF20A をノックダウンすると癌細胞の増殖が抑制されることから、癌細胞の増殖に重要な働きを示すとされている。また KIF20A は膀胱癌のほかに、肺癌、胆管細胞癌、膀胱癌などの様々な癌腫において高率に発現していることが報告されている。以上より、KIF20A は、理想的な癌抗原としての特徴を備えていると考えられる。これまでに悪性黒色腫における KIF20A の発現は報告されていない。そこで、我々は KIF20A の悪性黒色腫における発現解析を行ない、ペプチドワクチンとして有望であるかどうかを検討した。

また今後実際に臨床試験を行っていく上で、難治性希少疾患である悪性黒色腫には、対照とする本邦におけるヒストリカルデータとして十分なものが存在しないことが問題となる。そこで、本研究班で進行期悪性黒色腫に対する現在の標準治療でのヒストリカルデータを作成することを目的とした。

B. 研究方法

はじめに悪性黒色腫の細胞株を 10 種類用いて

RT-PCR、ウェスタンブロッティングを行った。次に手術で得られた患者標本を用いて検討を行った。免疫染色では悪性黒色腫の原発部の標本 38 例 (stage0:3 例、stageI:9 例、stageII:13 例、stageIII:11 例、stageIV:2 例/末端黒子型 17 例、悪性黒子型 7 例、表在拡大型 6 例、結節型:8 例)、遠隔転移標本 9 例、色素性母斑:26 例を用いて染色を行った。RT-PCR では手術で得られた凍結標本を用い、悪性黒色腫 28 例 (stage 別 stage0:5 例、stageI:4 例、stageII:11 例、stageIII:6 例、stageIV:2 例/病型別 末端黒子型 12 例、悪性黒子型 7 例、表在拡大型 4 例、結節型:5 例)、遠隔転移標本 10 例、色素性母斑 4 例にて検討を行った。

ヒストリカルデータの構築に関しては、調査票を信州大学、鹿児島大学、国立がん研究センター中央病院、熊本大学にて記入、集計、解析した。

調査範囲は各施設にカルテがある 2000 年からとし、予後を十分に追跡できる 2007 年までに各施設を受診した患者とした。集計したのは、初診時が stageIV の患者とした。また別解析群として、初診時は stageIII 以下であったが、2005 年から 2007 年までに再発し、stageIV となった患者の解析も行った。理由としては、近年の啓蒙活動で、進行期悪性黒色腫で受診する患者は減少しており、むしろ初診時は stageIII 以下であり、標準治療を受けたにもかかわらず、再発し進行期になってしまう患者のほうが多いことが挙げられる。前医での外科処置は集計に含め、化学療法を術後受けた再発例などは除外した。staging は AJCC2009 に準拠した。

[倫理面への配慮]

本研究において、臨床検体を用いた研究は国立がん研究センターならびに関連する施設の倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施し、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施している。患者に対しては倫理審査委員会で承認された説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認している。また、患者のプライバシー保護には最大の努力を払っている。

C. 研究結果

ウェスタンブロット、RT-PCR で解析したすべての悪性黒色腫の細胞株において KIF20A の mRNA 並びにタンパク質の発現を確認できた。

患者検体を用いた免疫染色による解析では、悪性黒色腫は 24/38 (63%)、転移性悪性黒色腫 6/9 (67%) にて陽性であったのに対し色素性母斑では 3/26 (12%) という結果であった。なお、stage 別、病型別いずれにおいても同じような割合で KIF20A の発現が確認された。同じく、患者検体を用いた RT-PCR による検討では、18/28 (64%)、転移性悪性黒色腫 8/10 (80%)、色素性母斑 2/4 (50%) で陽性

であった。こちらもいずれの stage、病型でも免疫染色同様に同じような割合での発現を認め、ステージの進行や、転移病変にて発現の消失などは確認できなかった。これらの結果により、約 6 割程度の悪性黒色腫において KIF20A の発現があると考えられた。

ヒストリカルデータ作成のための調査票を回収し集計したところ、2000 年から 2007 年の間に当研究班の施設に受診した時点ですでに stageIV だった患者は 26 人 (男性 14 人、女性 12 人) だった。一方、初診時は stage III 以下で、標準治療を受けるも、再発転移を来し stage IV となった患者は 16 人 (男性 6 人、女性 10 人) であった。両患者群の年齢性別に有意差はなかった。初診時 stage IV だった患者の全生存期間は 335 日±397 日、無増悪生存期間は、190 日±214 日であった。一方、標準治療後に stageIV となった患者の全生存期間は 439 日±367 日、無増悪再発期間は 216 日±317 日であり、両群に有意差は認めなかった。

D. 考察

以上の結果と臨床データとの相関についての検討を行った。悪性黒色腫の staging には腫瘍の厚さ (tumor thickness: 以下 TT) が TNM 分類の T に関与しており AJCC 7th edition では 1mm 以下、1-2mm、2-4mm、4mm 以上でそれぞれ T1 から T4 に分類されている。つまり TT は悪性黒色腫の予後因子として重要な項目である。今回、免疫染色に KIF20A 陽性群、陰性群で TT を比較したところ、KIF20A 陽性群の中央値 5.1mm に対し、陰性群では 2.1mm であり、統計学的有意差を認めた。無再発生存期間についても検討を行った。RT-PCR あるいは免疫染色いずれかで KIF20A 陽性であった群といずれも陰性であった群で比較をしたところ、KIF20A 陽性群では無再発生存期間が短縮する傾向を認めた。

E. 結論

KIF20A は悪性黒色腫の進展や予後に関与しているとも考えられた。今後は、進行期の悪性黒色腫に対して KIF20A をターゲットとしたペプチドワクチンの臨床試験へとつなげていきたいと考えている。以上の KIF20A に関する論文は現在投稿中である。また今後臨床試験をおこなっていく上で、試験デザインを設定するためにも有用なヒストリカルデータを構築することができた。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) 福島聡、尹浩信、西村泰治、千住覚、多能性幹細胞から誘導した樹状細胞によるがん免疫療法、日本臨床免疫学会会誌 34(3):113-120,