

Phase I clinical trial of survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent oral cancer

Akihiro Miyazaki,^{1,3} Junichi Kobayashi,¹ Toshihiko Torigoe,² Yoshihiko Hirohashi,² Takashi Yamamoto,¹ Akira Yamaguchi,¹ Hiroko Asanuma,² Akari Takahashi,² Yoshitaka Michifuri,^{1,2} Kenji Nakamori,¹ Itaru Nagai,¹ Noriyuki Sato² and Hiroyoshi Hiratsuka¹

Departments of ¹Oral Surgery, ²Pathology, Sapporo Medical University School of Medicine, Sapporo, Japan

(Received July 12, 2010/Revised October 25, 2010/Accepted October 26, 2010/Accepted manuscript online November 3, 2010/Article first published online December 10, 2010)

Survivin, a member of the inhibitor of apoptosis protein (IAP) family, is abundantly expressed in most malignancies, but is hardly detectable in normal adult tissues. Previously we have identified a human leukocyte antigen (HLA)-A24-restricted antigenic peptide, survivin-2B80-88 (AYACNTSTL), recognized by CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes (CTL). Survivin-2B80-88-specific CTL were induced efficiently from peripheral blood mononuclear cells (PBMC) of oral cancer patients after stimulation with the peptide *in vitro*. We conducted a phase I clinical study to evaluate the safety and the efficacy of survivin-2B80-88 peptide vaccination in HLA-A24-positive patients with advanced or recurrent oral cancer. The vaccines were given subcutaneously or intratumorally six times at 14-day intervals. Eleven patients were enrolled and 10 patients completed the vaccination protocol. No adverse events were observed in any patients. In two patients, the levels of serum squamous cell carcinoma (SCC) antigen decreased transiently during the period of vaccination. Tumor regression that was compatible with a partial response (PR) was noted in one patient. The remaining nine patients experienced progressive disease (PD). Immunologically, an increase of the peptide-specific CTL frequency was detected in six of the eight patients evaluated by HLA-A24/peptide tetramer analysis. The present clinical trial revealed that survivin-2B peptide vaccination was safe and had therapeutic potential for oral cancer patients. However, subsequent clinical trials in combination with various adjuvant drugs will be required to improve the immunological and therapeutic efficacy. This trial was registered with University Hospital Medical Information Network (UMIN) number UMIN000000976. (*Cancer Sci* 2011; 102: 324–329)

Oral cancer consistently ranks as one of the 10 most frequently diagnosed cancers worldwide.⁽¹⁾ It encompasses a range of malignant tumors arising from various diverse and complex structures that have major physiological and aesthetic importance. For most early stage oral cancers, high cure rates are achieved with either surgery or definitive irradiation and both speech and swallowing functions can often be preserved. On the other hand, locally advanced or recurrent oral cancers are usually treated with combination therapy consisting of either surgery followed by postoperative chemoradiation or chemoradiation with surgical salvage if needed. However, most patients remain at high risk for locoregional recurrence and distant metastasis.⁽²⁾ Therefore, advances in new therapeutic modalities such as tumor-specific immunotherapy for patients with locally advanced or recurrent oral cancers are urgently needed.

A large number of tumor-associated antigens have been identified from melanomas and other cancers, and clinical trials of peptide-based immunotherapy have been carried out. Melanoma antigen peptides were the first to be tested in phase I and phase II studies for active immunization of metastatic melanoma

patients.^(3,4) During the first stage of the studies, clinical responses were observed in Europe and the United States.^(5,6) However, in 2003, Rosenberg *et al.*⁽⁷⁾ reported that <5% of patients who received peptide vaccines such as gp100, MART-1 and tyrosinase plus IL-2 showed an overall objective response (complete response [CR] + partial response [PR]). On the other hand, investigational immunotherapy that targeted MAGE-A3 tended to reduce the risk of recurrence by 27% when used as an adjuvant therapy with surgery in stage IB/II non-small-cell lung cancer. Furthermore, enrolment in the global phase III trial of adjuvant MAGE-A3 for non-small-cell lung cancer has already started according to a certain European Union (EU)-based pharmaceutical company. This finding provides hope for current and future immunotherapies and has accelerated a variety of investigations concerned with human tumor immunology.

Survivin is a recently characterized inhibitor of apoptosis protein (IAP) that is abundantly expressed in most solid and hematological malignancies, but is barely detectable in normal adult tissues.⁽⁸⁾ It has been shown to increase tumor resistance to apoptotic stimuli such as radiation and chemotherapy.^(9,10) A number of reports have demonstrated that survivin expression in cancer cells has a prognostic value and is associated with increased tumor recurrence and a lower survival rate,^(11–16) although the opposite correlation is observed in certain cancers.⁽¹⁷⁾ We previously reported that survivin-2B, a splicing variant of survivin, is also expressed abundantly in various tumor cell lines and the survivin-2B80-88 (AYACNTSTL) peptide derived from the exon 2B-encoded region is recognized by CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes (CTL) in the context of human leukocyte antigen (HLA)-A24 molecules.⁽¹⁸⁾ The CTL specific for this peptide were successfully induced from PBMC in six of seven HLA-A24-positive patients (83%) with colorectal cancers and exerted cytotoxicity against HLA-A24-positive/survivin-positive adenocarcinoma cells.⁽¹⁹⁾ Furthermore, we recently demonstrated that survivin-2B peptide-specific CTL were induced in four of eight (50%) HLA-A24-positive patients with oral cancer with over stage II progression.⁽²⁰⁾ Based on these observations, a phase I clinical study of survivin-2B peptide vaccination was initiated for patients with locally advanced or recurrent oral cancer. The present clinical trial demonstrated the safety and suggested the marginal clinical effectiveness of the survivin-2B peptide vaccination alone for oral cancer patients.

Materials and Methods

Eligibility criteria. The study protocol was approved by the Clinical Institutional Ethical Review Board of the Medical

³To whom correspondence should be addressed.
E-mail: amiyazak@sapmed.ac.jp

Institute of Bioregulation, Sapporo Medical University, Japan. All patients gave their written informed consent before entry into the study. Patients enrolled in this study were required to conform to the following criteria: (i) to have histologically proven oral cancer; (ii) to be HLA-A*2402 positive; (iii) to have survivin-positive cancerous lesions by immunohistochemistry; (iv) to have HLA class I-positive cancerous lesions by immunohistochemistry using the anti-pan HLA class I mAb EMR8-5; (v) to be 20–85 years old; (vi) to have an unresectable, locally advanced or recurrent tumor; and (vii) to have an Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG) performance status of between 0 and 3. The exclusion criteria included: (i) prior cancer therapy such as chemotherapy, radiation therapy, steroid therapy or other immunotherapy within the previous 4 weeks; (ii) the presence of other cancers that might influence the prognosis; (iii) immunodeficiency or a history of splenectomy; (iv) severe cardiac insufficiency, acute infection or hematopoietic failure; (v) pregnancy or breast-feeding; and (vi) unsuitability for the trial based on clinical judgment. This study was carried out at the Department of Oral Surgery, Sapporo Medical University Primary Hospital from September 2003.

Peptide preparation. The survivin-2B80-88 peptide (amino acid sequence AYACNTSTL), which was derived from a splicing variant survivin-2B-specific exon 2B, was prepared under good manufacturing practice conditions by Multiple Peptide Systems (San Diego, CA, USA). The identity of the peptide was confirmed by mass spectral analysis and the purity was shown to be more than 98% as assessed by high-pressure liquid chromatography analysis. The peptide was supplied as a freeze-dried, sterile white powder. It was dissolved in 1.0 mL of physiological saline (Otsuka Pharmaceutical Co., Ltd., Tokyo, Japan) and stored at -80°C until just before use.

Treatment protocol. Vaccinations with survivin-2B peptide were administered subcutaneously (s.c.) into the ipsilateral neck or intratumorally six times at 14-day intervals. Two incremental dose levels were planned for the peptide administration, with a starting dose of 0.1 mg. Six patients received 0.1 mg (group 1) and four patients received 1.0 mg (group 2), while each group was divided into the two different administration sites as stated above. Before proceeding to the next dose level, all previously administered patients had to have completed the trial period. Dose escalation for group 2 was allowed if no patients in group 1 experienced grade 3–4 toxicity.

If patients hoped for continuation of this peptide vaccine therapy, we conducted it in the same manner after the sixth administration.

Delayed-type hypersensitivity (DTH) skin test. The DTH skin test was performed at each vaccination. The peptide (10 μg) solution in physiological saline (0.1 mL) or physiological saline alone (0.1 mL) was separately injected intradermally (i.d.) into the forearm. A positive reaction was defined as area of erythema and induration with a diameter of more than 4 mm, 48 h after the injection.

Evaluation of toxicity and response. Patients were examined closely for signs of toxicity during and after the vaccination. The US National Cancer Institute Common Toxicity Criteria (NCI-CTC Version 2.0, Jan.30, 1998) were used to classify the toxicity grades.

Physical examinations and hematological examinations were conducted before and after each vaccination. The serum level of squamous cell carcinoma (SCC) antigen, which is the current standard tumor marker for head and neck cancer, was examined at 14-day intervals. A SCC antigen level of 1.5 ng/mL was generally taken as the upper limit of the normal range. The tumor size was evaluated by visual inspection, computed tomography (CT) and magnetic resonance imaging (MRI) before treatment, after three vaccinations and at the end of the study period. The tumor response was evaluated according to the Response Evalu-

ation Criteria in Solid Tumors (RECIST) guidelines:⁽²¹⁾ a complete response (CR) was defined as the disappearance of all target lesions; and a partial response (PR) was defined as at least a 30% decrease in the sum of the longest diameters of the target lesions for at least 4 weeks without the appearance of new lesions. Progressive disease (PD) was defined as at least a 20% increase in the sum of the longest diameters of the target lesions or the appearance of one or more new lesions. Stable disease (SD) was defined as neither sufficient shrinkage to qualify for a PR nor a sufficient increase to qualify for PD.

In vitro stimulation of PBMC. The PBMC were isolated from blood samples by Ficoll–Conray density gradient centrifugation and then frozen and stored at -80°C . As needed, frozen PBMC were thawed and incubated in the presence of 30 $\mu\text{L}/\text{mL}$ survivin-2B peptide in AIM-V medium containing 10% human serum at room temperature. Interleukin-2 (IL-2) was added at a final concentration of 50 U/mL for 1 h on days 0, 2, 4 and 6 of culture. On day 7, the PBMC were analyzed by tetramer staining.

Tetramer staining. HLA-A24/peptide tetramers were constructed according to the procedure described by Altman *et al.*⁽²²⁾ Briefly, recombinant HLA-A24 heavy chain⁽²³⁾ and human β -2-microglobulin were refolded with the survivin-2B80-88 peptide as described previously.⁽²⁴⁾ The resulting HLA-A24-peptide monomer was biotinylated by incubation with the enzyme BirA (Avidity, Denver, CO, USA) for 17 h at room temperature and purified using fast protein liquid chromatography. A tetrameric HLA-peptide complex was produced by incubating streptavidin-PE (Vector Laboratories, Burlingame, CA, USA) with the biotinylated monomer at a 1:4 molar ratio. For flow cytometric analysis, the PBMC, which were stimulated *in vitro* as above, were stained with the phycoerythrin (PE)-labeled tetramer at 37°C for 20 min, followed by staining with an FITC-conjugated anti-CD8 mAb (Becton Dickinson Biosciences, San Jose, CA, USA) at 4°C for 30 min. The cells were washed twice with PBS before fixation in 1% formaldehyde. Flow cytometric analysis was performed using a FACSCalibur and the CellQuest software program (Becton Dickinson Biosciences). The frequency of the CTL precursors was calculated as the number of tetramer-positive cells over the number of CD8-positive cells. Moreover, the PBMC were stained with an FITC-labeled HLA-A*2402-restricted human immunodeficiency virus (HIV) peptide (RYLRDQQLL) tetramer and PE-labeled HLA-A*2402-survivin-2B80-88 peptide tetramer, which were purchased from MBL Co., Ltd. (Nagoya, Japan), at 37°C for 20 min, followed by staining with an FITC- or PerCP-conjugated anti-CD8 mAb (Becton Dickinson Biosciences) at 4°C for 30 min. The frequency of the CTL precursors was calculated in the same manner.

Results

Patient characteristics. Eleven patients (six males, five females) were eligible and agreed to participate in this phase I study. The patients' characteristics are summarized in Table 1. The patients' median age at enrolment was 66.5 years, with a range 38–84 years. Based on the ECOG classification, five patients were PS1, five were PS2, and one was PS3. The patients' primary tumor sites were: buccal mucosa, three; palate, two; upper or lower alveolus and gingiva, two; mandible, one; floor of mouth, one; submandibular gland, one; and tongue, one. The histological type was SCC in seven patients, adenoid cystic carcinoma (ACC) in three and alveolar soft part sarcoma (ASPS) in one. Table 2 summarizes the clinical and immunological outcomes for the 11 patients. One patient discontinued the regimen after four vaccinations. She (case 8) had a growing locoregional recurrence and her general condition deteriorated. Subsequently she was removed from the study after four vaccinations because she refused to continue the protocol. None of

Table 1. Summary of the characteristics of patients enrolled in the present study

Patient no.	Histology	Age/Sex	PS	Primary tumor site	Recurrent or metastatic sites
1	ASPA	38/M	1	Mandible	Local, brain, lung
2	ACC	60/M	1	Hard palate	Local, lung
3	SCC	84/F	3	Floor of mouth	Locoregional
4	ACC	50/F	2	Submandibular gland	Lung
5	SCC	83/F	2	Upper alveolus and gingiva	Locoregional
6	SCC	72/M	2	Buccal mucosa	Local
7	SCC	55/M	2	Tongue	Locoregional
8	SCC	82/F	2	Lower alveolus and gingiva	Neck
9	SCC	73/M	1	Hard palate	Lung, liver
10	SCC	82/F	1	Buccal mucosa	Neck
11	SCC	68/M	1	Buccal mucosa	Locoregional

ACC, adenoid cystic carcinoma; ASPA, alveolar soft part sarcoma; SCC, squamous cell carcinoma.

Table 2. Profiles of the enrolled patients and clinical responses to the survivin-2B peptide vaccination

Patient no.	Dose of peptide (mg)	Injection route	HLA class I expression	Prior therapy (washout time)	Adverse events	Tetramer staining† (pre-/post-)	Tumor marker	Clinical response	Follow up (months)	Progress
1	0.1	Intratumoral	+	S + C (1 month)	–	ND	ND	PD	43	AWD
2		Intratumoral	+	S + C (1 month)	–	121/103	ND	PD	25	DOD
3		Intratumoral	+	C + R (1 month)	–	ND	ND	PD	3	DOD
4		s.c.	+	S + C + R (6 years, 4 months)	–	1/100	ND	PD	15	DOD
5		s.c.	+	C (1 month)	–	6/16	INC	PD	6	DOD
6		s.c.	+	S + R + C (1 months)	–	65/244	INC	PD	3	DOD
7		Intratumoral	+	S + R + C (1 month)	–	96/528	ND	PD	6	DOD
8‡	1.0	Intratumoral	+	S + R (1 month)	–	ND	ND	ND	2	DOD
9		s.c.	+	S + C (2 months)	–	77/204	DEC	PD	5	DOD
10		Intratumoral	+	S + C (1 month)	–	5/20	DEC	PR	5	DOD
11		s.c.	+	S + R + C (5 months)	–	5/1	ND	PD	8	DOD

†Tetramer staining: Tetramer(+)CD8(+) in 10 000 CD8(+) cells. ‡Patient refused to continue the protocol (case 8). AWD, alive with disease; C, chemotherapy; DEC, decreased; DOD, dead of disease; HLA, human leukocyte antigen; INC, increased; ND, not determined; PD, progressive disease; post-, after the fourth vaccination; PR, partial response; pre-, before the first vaccination; R, radiotherapy; S, surgery.

the treatment interruptions were due to any adverse reactions to the vaccination. Ten patients received the complete regimen including six vaccinations and thereafter were evaluated.

Safety. The peptide vaccination was well tolerated in all 10 patients. No hematological, cardiovascular, hepatic or renal toxicity was observed during or after vaccination. Skin reactions such as induration, pain or rash were not observed in any case.

DTH skin test. A DTH skin test was performed at each vaccination and assessed 48 h later. No positive DTH reaction was observed in any patient.

Clinical responses. In two patients (cases 9 and 10) the tumor marker level (SCC antigen) transiently decreased. In two patients (cases 5 and 6) it increased and in the remainder it was not useful for monitoring. A PR was observed in one patient (case 10), who also demonstrated a remarkable decrease in the SCC antigen level (6.0 ng/mL → 0.7 ng/mL). The remaining nine patients experienced PD.

Case 9, who had multiple lung metastases, transiently showed a positive level of SCC antigen of 2.1 ng/mL that decreased after the second vaccination and was within the normal range just after the third vaccination. However, after the fourth vaccination it increased abruptly, which closely corresponded to his clinical progress. Until the fourth vaccination, CT imaging of the lung revealed virtually dormant disease, however, it revealed progressive disease after the sixth vaccination.

One responder (case 10) with PR developed multiple neck metastases and skin metastases in the left side of her neck at 3 months after surgery followed by treatment with tegafur/

uracil (UFT) at a daily dose of 400 mg as oral adjuvant chemotherapy. She was judged to be impossible to treat radically because CT imaging showed that the recurrent tumor had metastasized to lymph nodes and the skin, including the parotid gland, submandibular region, posterior cervical region, occipital region of the head, posterior skull base and lower cervical region (Fig. 1A). The metastatic progressive tumor samples from her neck obtained by neck dissection previously were confirmed by immunohistochemical staining to markedly express survivin and HLA class I molecules. Survivin-2B peptide vaccine was administered intratumorally to the left side of her neck nine times at biweekly intervals. The SCC antigen level was 6.0 ng/mL before vaccination. Her skin metastatic tumor and pain disappeared transiently after the fifth vaccination, thus resulting in an improvement in her quality of life. A tumor regression rate of 70% was observed by CT imaging (Fig. 1B). The SCC antigen level decreased to 0.7 ng/mL after the sixth vaccination (Fig. 2). Nevertheless, these effects were maintained for 2 months only.

Tetramer staining assay. Peptide-specific immunological responses were evaluated in eight patients by HLA-A24/survivin-2B80-88 peptide tetramer analysis. The change of the tetramer-positive CTL frequency was evaluated by comparison with that before the first vaccination and that after each vaccination. The frequency of tetramer-positive CTL tended to increase after the vaccination in six patients (cases 4, 5, 6, 7, 9 and 10) (Table 2). In Figure 3, the peptide-specific CTL frequencies in cases 9 and 10 are indicated as the percentages of

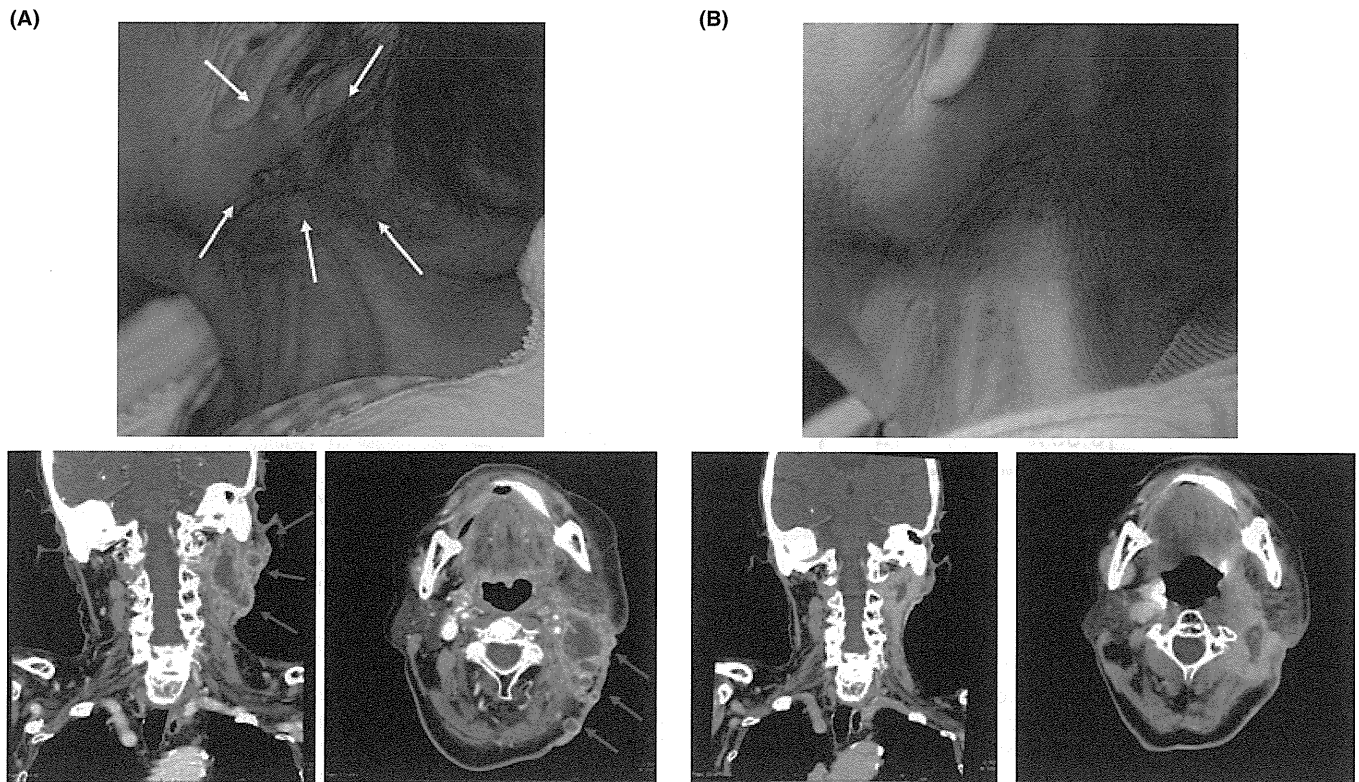


Fig. 1. Photograph of skin on the neck and computed tomography (CT) scan image of the neck showing metastatic tumors of case 10. (A) Photograph of skin on the neck and CT scan image of the neck before vaccination. Axial contrast-enhanced CT image shows multiple metastatic tumors (arrows). (B) Photograph of skin on the neck and CT scan image of the neck after the fifth vaccination. The metastatic tumors show significant remission after the fifth vaccination compared with before vaccination (70% reduction).

tetramer-positive CTL among CD8-positive T cells before and after the fourth vaccination. The frequency of tetramer-positive CTL was increased from 0.77% to 2.04% and from 0.05% to 0.20%, in cases 9 and 10 respectively.

Discussion

Many tumor-associated antigens have been identified and clinical trials utilizing them have been conducted.⁽³⁻⁶⁾ However, most such clinical trials were aimed at the treatment of advanced melanoma and there are few reports on the treatment of patients with solid cancers. Although the immunogenicity of these non-melanoma-associated antigens is relatively weak, a specific number of tumor antigens were determined. The HLA-A24-restricted CTL epitope survivin-2B80-88 derived from survivin-2B has high potency for CTL induction in various cancer patients, including those with breast cancer, colorectal cancer, gastric cancer and oral cancer.^(10,18-20) Based on the findings of these studies *in vitro*, a phase I clinical study of survivin-2B peptide vaccine therapy began in September 2003 for patients with advanced or recurrent oral cancer, following those for colorectal cancer and breast cancer. In many clinical trials, patients received the peptide in combination with certain adjuvants such as incomplete Freund's adjuvant (IFA) and cytokines for the purpose of enhancing the immune responses against cancer. In the present study, patients received the survivin-2B peptide dissolved in physiological saline without any adjuvant in order to strictly evaluate the clinical effect of the peptide alone.

A dose-escalation trial was chosen to estimate the safe and optimal doses. Dosage groups of 0.1 and 1.0 mg were set up, consisting of six and four patients, respectively. None of the patients had any sign of toxicity. Therefore, the survivin-2B

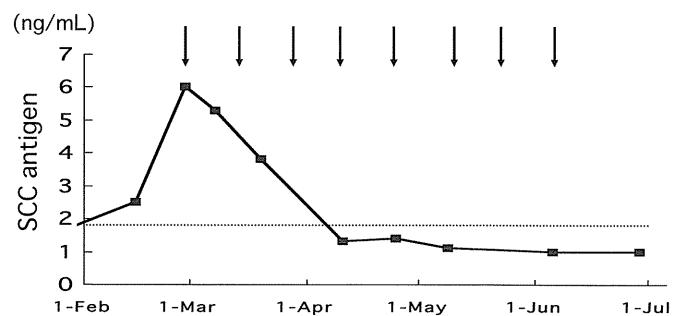
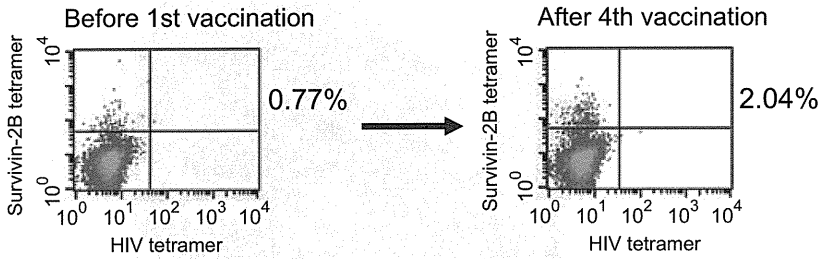


Fig. 2. Changes in the serum squamous cell carcinoma (SCC) antigen level during the vaccination in case 10. The dotted line indicates the cut-off point for the SCC antigen level. The arrows indicate the times of vaccination. The SCC antigen level significantly decreased to 0.7 ng/mL after the sixth vaccination. The cut-off value was 1.5 ng/mL.

peptide vaccine was safe and could be repeatedly injected into patients without serious side-effects. In terms of the clinical responses, the levels of tumor markers were temporarily decreased in comparison with the pretreatment status in two patients in the 1.0 mg dosage group. No patients in the 0.1 mg dosage group experienced a decrease in tumor markers. A PR was observed in one patient who was administered 1.0 mg of peptide. Therefore, the 1.0 mg dosage group appeared to have a better clinical outcome than the 0.1 mg dosage group. Based on these results, the recommended survivin-2B vaccine dose was 1.0 mg. Furthermore, we set up two distinct injection routes, s.c. into the ipsilateral neck or intratumorally. Intratumoral injection was concretely done by

Case no. 9



Case no. 10

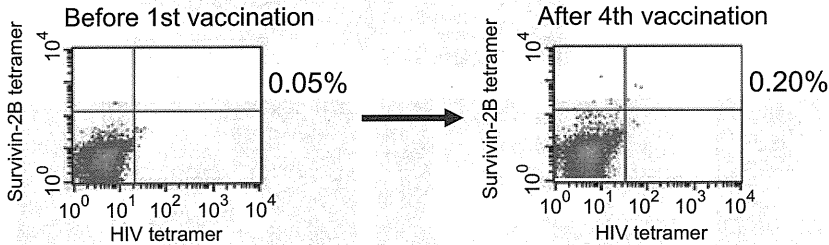


Fig. 3. Tetramer staining before the first vaccination and after the fourth vaccination in cases 9 and 10. Flow cytometric analysis was performed using a FACSCaliber and CellQuest software (Becton Dickinson Biosciences). The frequency of the cytotoxic T lymphocyte (CTL) precursors was calculated as the number of tetramer-positive cells divided by the number of CD8-positive cells. The peptide-specific CTL frequency is indicated as the percentage of tetramer-positive CTL among CD8-positive T cells before the first vaccination and after the fourth vaccination. In cases 9 and 10, the frequency of tetramer-positive CTL was increased from 0.77% to 2.04% and from 0.05% to 0.20%, respectively. HIV, human immunodeficiency virus.

submucosal or subcutaneous vaccination into the peripheral parts of tumors, avoiding necrotic areas and vessels, for introral tumors and neck tumors, respectively. However, no significantly different findings as a whole were noted for the clinical and immunological responses.

In the present study, one patient (case 10) achieved a clinical PR. This demonstrated that the survivin-2B vaccination could yield an excellent response in oral cancer. The patient had received tegafur/uracil (UFT) as oral adjuvant chemotherapy and limited systemic chemotherapy for a few months prior to the vaccine treatment. She was judged to have PS1 in the ECOG classification. It is possible that peptide-based immunotherapy might be more effective in patients with reduced immune suppression as a result of recent intensive chemotherapy, as suggested by the previous clinical study of survivin-2B vaccination for colon cancer, although the study consisted of only a limited number of patients.⁽²⁵⁾ The results of the present trial were mostly compatible with the colon cancer studies in terms of the chemotherapeutic background. Furthermore, by immunohistochemistry, we preliminarily examined the infiltration of local immune cells in metastatic progressive tumor samples from her neck obtained before the first vaccination. Infiltration of CD8 T-cells into the peripheral parts of the tumor was markedly observed. On the other hand, a large number of tumor cells with strong survivin and HLA class I expression were observed. It was presumed that these findings indicated good conditions for immune responses in the tumor microenvironment. However, we failed to obtain a specimen during or after vaccination to evaluate the frequency of these cells (data not shown). Further studies to elucidate the immunoregulatory mechanisms of the immune escape by analyzing the infiltrating immune cells in local tumor sites will be necessary.

References

- 1 Rodrigues VC, Moss SH, Tuomainen H. Oral cancer in the UK: to screen or not to screen. *Oral Oncol* 1998; **34**: 454–65.
- 2 Yao M, Epstein JB, Modi BJ *et al.* Current surgical treatment of squamous cell carcinoma of the head and neck. *Oral Oncol* 2007; **43**: 213–23.
- 3 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**: 1643–7.

Although analysis of peripheral blood lymphocytes using HLA-A24/peptide tetramers actually revealed a slight increase in the peptide-specific CTL frequency in six patients, the immune responses had no relevance to the clinical responses in this study. It seems reasonable to conclude that the number of CTL induced by the vaccine was insufficient to induce tumor regression in patients with advanced or recurrent oral cancer, as vaccine-specific CTL might not be recruited into the tumor site, and the cytotoxic function of CTL might be suppressed in the tumor site by certain mechanisms such as regulatory T cells and immunosuppressive cytokines in the tumor microenvironment.

Overall, the survivin-2B peptide vaccination was well tolerated, but it is suggested that this vaccination protocol might provide only marginal immunological and clinical responses in most advanced or recurrent oral cancer patients. It is possible that advanced protocols such as a more intense immunization schedule and delivery in combination with a specific adjuvant and/or an immune-stimulatory cytokine might improve the efficacy of the survivin-2B peptide vaccine against oral cancer. Indeed, vaccination of the survivin-2B peptide mixed with IFA increased the frequency of peptide-specific CTL more than vaccination with the peptide alone in a phase I clinical trial for patients with advanced or recurrent breast cancer.⁽²⁶⁾ Based on the results of the present study and the other trials, a second clinical study of survivin-2B peptide vaccine has recently been started in combination with IFA and interferon-alpha.

Disclosure Statement

The authors have no conflict of interest.

- 4 Kawakami Y, Eliyahu S, Delgado CH *et al.* Cloning of the gene coding for a shared antigen recognized by autologous T cells infiltrating into tumor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; **91**: 3515–19.
- 5 Parmiani G, Castelli C, Dalerba P *et al.* Cancer immunotherapy with peptide-based vaccines: what have we achieved? Where are we going? *J Natl Cancer Inst* 2002; **94**: 805–18.
- 6 Rosenberg SA, Yang JC, Schwartzentruber DJ *et al.* Immunologic and therapeutic evaluation of a synthetic peptide vaccine for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Nat Med* 1998; **4**: 321–7.

- 7 Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004; **10**: 909–15.
- 8 Ambrosini G, Adida C, Altieri DC. A novel anti-apoptosis gene, surviving, expressed in cancer and lymphoma. *Nat Med* 1997; **3**: 917–21.
- 9 Altieri DC. Survivin, versatile modulation of cell division and apoptosis in cancer. *Oncogene* 2003; **22**: 8581–9.
- 10 Asanuma H, Torigoe T, Kamiguchi K *et al*. Survivin expression is regulated by coexpression of human epidermal growth factor receptor 2 and epidermal growth factor receptor via phosphatidylinositol 3-kinase/AKT signaling pathway in breast cancer cells. *Cancer Res* 2005; **65**: 11018–25.
- 11 Lo Muzio L, Pannone G, Staibano S *et al*. Survivin expression in oral squamous cell carcinoma. *Br J Cancer* 2003; **89**: 2244–8.
- 12 Kawasaki H, Altieri DC, Lu CD *et al*. Inhibition of apoptosis by survivin predicts shorter survival rates in colorectal cancer. *Cancer Res* 1998; **58**: 5071–4.
- 13 Kato J, Kuwabara Y, Mitani M *et al*. Expression of survivin in esophageal cancer: correlation with the prognosis and response to chemotherapy. *Int J Cancer* 2001; **95**: 92–5.
- 14 Lo Muzio L, Farina A, Rubini C *et al*. Survivin as prognostic factor in squamous cell carcinoma of the oral cavity. *Cancer Lett* 2005; **225**: 27–33.
- 15 Rosato A, Pivetta M, Parenti A *et al*. An accurate prognostic marker for squamous cell carcinoma but not adenocarcinoma. *Int J Cancer* 2006; **119**: 1717–22.
- 16 Tanaka K, Iwamoto S, Gon G *et al*. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas. *Clin Cancer Res* 2000; **6**: 127–34.
- 17 Freier K, Pungs S, Sticht C *et al*. High survivin expression is associated with favorable outcome in advanced primary oral squamous cell carcinoma after radiation therapy. *Int J Cancer* 2007; **120**: 942–6.
- 18 Hirohashi Y, Torigoe T, Maeda A *et al*. An HLA-A24-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope of a tumor-associated protein, survivin. *Clin Cancer Res* 2002; **8**: 1731–9.
- 19 Idenoue S, Hirohashi Y, Torigoe T *et al*. A potent immunogenic general cancer vaccine that targets survivin, an inhibitor of apoptosis proteins. *Clin Cancer Res* 2005; **11**: 1474–82.
- 20 Kobayashi J, Torigoe T, Hirohashi Y *et al*. Comparative study on the immunogenicity between an HLA-A24-restricted cytotoxic T-cell epitope derived from survivin and that from its splice variant survivin-2B in oral cancer patients. *J Transl Med* 2009; **7**: 1.
- 21 Therasse P, Arbutk SG, Eisenhauer EA *et al*. New guidelines to evaluate the response to treatment in solid tumors. *J Natl Cancer Inst* 2000; **92**: 205–16.
- 22 Altman JD, Moss PA, Goulder PJ *et al*. Phenotypic analysis of antigen-specific T lymphocytes. *Science* 1996; **274**: 94.
- 23 Sato Y, Sahara H, Tsukahara T *et al*. Improved generation of HLA class I/peptide tetramers. *J Immunol Methods* 1996; **20**: 177–84.
- 24 Sato Y, Nabeta Y, Tsukahara T *et al*. Detection and induction of CTLs specific for SYT-SSX-derived peptides in HLA-A24(+) patients with synovial sarcoma. *J Immunol* 2002; **169**: 1611–18.
- 25 Tsuruma T, Hata F, Torigoe T *et al*. Phase I clinical study of anti-apoptosis protein, survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent colorectal cancer. *J Transl Med* 2004; **2**: 19.
- 26 Tsuruma T, Iwayama Y, Ohmura T *et al*. Clinical and immunological evaluation of anti-apoptosis protein, survivin-derived peptide vaccine in phase I clinical study for patients with advanced or recurrent breast cancer. *J Transl Med* 2008; **6**: 24.

膵癌・胆道癌に対する免疫治療，ワクチン療法の新展開

ペプチドワクチンの開発から臨床応用に向けた新たな展開

中面 哲也¹⁾

要約：われわれが cDNA マイクロアレイデータを用いて同定した肝細胞癌特異的な癌胎児性抗原 Glypican-3 (GPC3) 由来のペプチドワクチン療法の臨床第 I 相試験を完了した。安全性、免疫学的有効性に加え、ある程度の臨床効果の手ごたえのようなものが得られたが、有効性に関しては、今後の臨床第 II 相試験で確認していく。また、GPC3 ペプチドを投与された癌患者の末梢血単核球 (PBMC) より、GPC3 ペプチド特異的 CTL を効率よく誘導し増幅させる技術を確立しており、また、たくさんの GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンを樹立している。GMP 準拠の細胞培養施設 Cell Processing Center (CPC) を利用してまずは GPC3 ペプチド特異的 CTL 療法の実施を目指している。さらに、現在開発を進めようとしている胆膵癌にも高発現している HSP105 を標的としたペプチドワクチン療法の開発計画についても述べ、癌ワクチン療法の臨床導入への問題点についても言及したい。

Key words：ペプチドワクチン，Glypican-3 (GPC3)，CTL，HSP105

I. 免疫療法における科学的根拠

もう治療がないと言われ、積極的治療が受けられなくなった進行癌患者の多くが民間療法や健康食品などに頼っている中で、免疫療法への期待や需要は大きい。あるいは、再発予防や予防法としての期待も高まっている。免疫療法は癌の第 4 の治療法と言われて久しいが、残念ながらまだ標準治療としては確立されていないのが現状である。適切な臨床試験と基礎研究の繰り返しによる科学的根拠に基づいた癌免疫療法の開発の必要がある。

1991 年に Boon ら¹⁾によりメラノーマ抗原 MAGE 遺伝子が同定され、ヒトの免疫系が癌を異物として認識し、排除しようことに科学的な根拠が与えられた。すなわち、癌化に関連して特異なタンパクが産生されると、これらに由来するペプチドが、HLA クラス I 分子

に結合して細胞の表面に発現し、CD8⁺細胞傷害性 T 細胞 (キラー T 細胞, CTL) がこれらを識別して活性化され、癌細胞を破壊するというメカニズムが存在する。現在までに、さまざまな癌拒絶抗原およびペプチドが同定され、それらを用いた臨床試験が世界中で行われている。米国 NCI の Rosenberg ら²⁾ は、2004 年の Nature Medicine に癌ワクチンの Review として、440 例中 CR, PR の response rate はわずか 2.6% であったと報告したが、そのことは 2009 年の米国癌学会でも議論になり、ペプチドワクチン単独では進行癌にはあまり有効ではないかもしれないが、生存期間や無増悪期間の延長等の可能性はあり、再発予防にも有効な可能性はある、またさまざまな免疫抑制分子に対する抗体との併用などに期待が持てるとの意見も多かった。一方、最近、日本国内のさまざまな施設から癌に対するペプチドワクチンの有効例の報告も散見される。以下、概要を表 1 に示す。

最近では、前立腺癌に対して「Provenge」という樹状細胞療法が FDA に承認され話題になったが、その他にもいくつかの第 III 相臨床試験での有効性も報告されている。一方では、最近、子宮頸癌の予防ワクチンが話題であるが、免疫療法がより有効であるのは、癌の再発予防や予防であると考えられ、免疫療法を用い

Development and Translational Research of Peptide Vaccine

Tetsuya Nakatsura

1) 国立がん研究センター東病院臨床開発センター
がん治療開発部機能再生室 (〒277-8577 柏市柏の葉 6-5-1)

表 1 癌ペプチドワクチン療法臨床試験の臨床効果の報告

報告施設	癌ワクチンの種類	臨床効果	文献
NCI	癌ワクチンの Review	440 例中の奏効率はわずか 2.6%	2
大阪大	WT1 ペプチド	骨髄異形成症候群, 急性骨髄性白血病, 乳癌, 肺癌, 脳腫瘍などで有効例	3~5
札幌医大	サバイビン 2B ペプチド	進行大腸直腸癌で奏効例	6, 7
久留米大	テーラーメード癌ペプチド	子宮頸癌, 大腸癌, 脳腫瘍, 膀胱癌で著効例	8, 9
近畿大	CA9 ペプチド	腎癌で複数の奏効例	10
山口大	KOC1, RNF43, TOMM34, VEGFR1, VEGFR2 の 5 種類のペプチド	大腸癌で奏効例	11
山梨医大	TTK, LY6K (URLC10), IMP-3 (KOC1) の 3 種類のペプチド	食道癌で奏効例	12
岩手医大	MPHOSPH1, DEPDC1 のペプチド	膀胱癌での抗腫瘍効果	13
和歌山医大	VEGFR2 ペプチド	切除不能進行膀胱癌に生存期間延長の期待	14
当院	GPC3 ペプチド	進行肝細胞癌で奏効例	15

た根治治療後の再発予防法や癌発症予防法の開発も必要である。本稿では、まずわれわれが先行して研究している胆膵癌には発現の認められない glypican-3 (GPC3) 由来ペプチドを用いたワクチン療法について述べたあとで、現在開発を進めようとしている胆膵癌にも高発現している HSP105 を標的としたペプチドワクチン療法の開発計画についても述べたいと思う。

II. 理想的な癌拒絶抗原が備えているべき性質

免疫療法への応用を考える場合には、多くの患者に適用できるかという汎用性、癌特異性、免疫原性、癌拒絶能、抗原消失性および自己免疫などの有害事象誘導の危険性などによって各抗原の特徴をとらえる必要がある。理想的な癌拒絶抗原が備えているべき性質として、①癌患者の体内において免疫応答を誘導する抗原、②発現の組織特異性が優れた抗原、③免疫系からの逃避が起こりにくい抗原の三つが重要である。

III. 癌特異的抗原 Glypican-3 (GPC3) の同定

われわれは、東大医科研・ヒトゲノムセンターの中村祐輔教授（現国立がん研究センター研究所長）との共同研究により、cDNA マイクロアレイを利用した 2 万種類を越える遺伝子の肝細胞癌と正常組織における発現解析データを用いて、肝細胞癌特異的な癌胎児性抗原として GPC3 を同定した。GPC3 遺伝子および蛋白質は、ほとんどの肝細胞癌組織ならびに細胞株で高発現するが、正常組織においては、胎生期の肝臓あ

るいは免疫学的に隔離された胎盤でしか発現がみられない。GPC3 は肝細胞癌の腫瘍マーカーとしても有用であることも示した¹⁶⁾。われわれは、GPC3 が理想的な腫瘍拒絶抗原になりえるかどうかを検討した。日本人の約 60% が陽性である HLA-A24 と BALB/c マウスの MHC クラス I 分子の K^dにはほぼ同じペプチドが結合することがわかっている。さらに、ヒトとマウスの GPC3 では、93% のホモロジーを認めることから、HLA-A24, K^dのいずれにも結合しうる GPC3 由来のペプチドを合成した。これらを BALB/c マウスに免疫して解析し、K^d拘束性の HLA-A24 結合性 CTL エピトープペプチド (EYILSLEEL) を同定した¹⁷⁾。同様にこれらを HLA-A24 transgenic mouse (Tgm) に免疫して解析した結果もやはり、同じ CTL エピトープペプチド (EYILSLEEL) が同定された。この HLA-A24 結合性 GPC3 由来ペプチド (EYILSLEEL) を用いて、ヒトの HLA-A24 陽性の肝細胞癌患者の末梢血リンパ球を刺激することで、約半数から GPC3 特異的 CTL を誘導することができた¹⁸⁾。GPC3 特異的 CTL 株を、GPC3 高発現ヒト肝細胞癌細胞株を移植したヌードマウスに移入して、その治療効果を証明した¹⁸⁾。また、日本人の 40% が陽性で、欧米白人のメジャータイプである HLA-A2 拘束性の CTL エピトープペプチドを同定するために、HLA-A2 に結合しうるペプチドを合成し、これらを HLA-A2 Tgm に免疫して解析した。同定した HLA-A2 結合性 GPC3 由来ペプチド (FVGEFFTDV) を用いてヒトの HLA-A2 陽性の肝細胞癌患者の末梢血リンパ球を刺激することで、約半数から GPC3 特異的 CTL を誘導することができた¹⁸⁾。また、非常に重要なことであるが、以上のいずれのマウスの実験においても、GPC3 抗原の免疫によって、

ペプチド特異的 CTL が誘導され、抗腫瘍効果は認められたが、自己免疫現象は決して誘導されなかった^{17,18)}。

IV. GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験¹⁹⁾

肝細胞癌においては、海外では目立った成績を示す癌ワクチンは開発されていない。国内では、われわれは、HLA-A24, -A2 陽性進行肝細胞癌患者を対象に、GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験を完了した。安全性に問題は無く、ほぼ全例の血液中にペプチド特異的 CTL の頻度の増加が検出され、その頻度はペプチド投与量が多いほど増えることが示唆された。また、CD8 陽性 CTL が、ペプチドワクチン後の癌組織内に多数浸潤して癌細胞を攻撃していることを、複数の患者さんで証明できた。約 60% の症例において初回ワクチン投与後 2 ヶ月の間に腫瘍マーカー PIVKA-II の低下を認め CT や MRI の画像検査での評価では約 60% の症例で 2 ヶ月間癌の増悪なし (安定 SD) であった。30 mg, 3 回投与の 1 例に腫瘍の縮小や消失などの著明な臨床効果 (部分奏効 PR) が出現した。今後はもう他に治療法がない進行肝細胞癌患者にとって有用であるかを第 II 相試験で検証するとともに、このようなワクチン療法は元来、腫瘍がない、あるいは CT でみえない腫瘍があったとしても腫瘍量が少ない状態でこそ威力を発揮すると考えられ、現在、手術やラジオ波焼灼療法 (RFA) などの肝細胞癌根治的治療後の再発予防効果を検証する第 II 相試験を実施中である。進行肝細胞癌患者にとって有用であるかを検証する第 II 相試験としては、Sorafenib と GPC3 ペプチドワクチンの併用療法と Sorafenib 単独療法を比較する非盲検多施設共同ランダム化第 II 相臨床試験と、GPC3 ペプチドワクチン単独療法の腫瘍局所での免疫学的有効性を評価する第 II 相臨床試験の 2 種類の試験を計画している。GPC3 は肝細胞癌だけでなく、一部の小児癌 (肝芽腫, 神経芽腫, 腎芽腫, 卵黄嚢腫瘍), 卵巣明細胞腺癌, 肺扁平上皮癌にも発現しており、それらの癌種に対しての応用も期待される。卵巣明細胞腺癌を対象とした第 II 相臨床試験は既に名古屋大学で開始されている。GPC3 を発現する小児癌および肺扁平上皮癌を対象とした臨床試験も計画している。

V. Rosenberg らによるヒト癌に対する強力な免疫療法の報告

米国国立がん研究所 (NCI) の Rosenberg らは、体外で培養した CTL を戻す養子免疫療法 Adoptive-Cell-Transfer therapy に、T 細胞の Homeostatic Proliferation という考え方を組み合わせた免疫療法について発表した²⁰⁾。Homeostatic Proliferation とは、体内のリンパ球の数は一定に保たれており、その数を減らしてやると、新たに移入されたリンパ球が生き延びて一定数に達するまで増殖するという現象である。あらかじめシクロホスファミドとフルダラビンの前投与により患者のリンパ球数を減らしておいて、そこへ大量に増やしておいた、癌細胞を傷害する CTL を移入すると、CTL が体内で長期にわたって生存し、ついには転移性メラノーマ約 50% の例で劇的な腫瘍縮小をもたらした。今までの癌の免疫療法では考えられないほどの抗腫瘍効果が観察された²¹⁾。最近では、抗癌剤と全身放射線照射にて体内リンパ球除去前処置後、体外で大量培養した腫瘍浸潤リンパ球 (TIL) を体内へ戻す TIL 養子細胞免疫療法によって、奏効率 70% という驚異的な結果を報告している。一方、この治療で用いられた CTL は、MART-1, gp100 といったメラノサイト分化抗原由来のペプチドを認識するもので、この治療により、正常メラノサイトへの攻撃による白斑やぶどう膜炎などの自己免疫現象も観察された²¹⁾。このことは、癌を拒絶できるほどの免疫療法が行われた場合、その CTL が認識する抗原が自己の正常臓器にも発現するものであれば、その臓器を傷害してしまう可能性があることを示している。すなわちわれわれは、癌特異的に発現する、あるいは重要な正常臓器には発現しない癌拒絶抗原を同定しなければならない。免疫療法も工夫したり他の治療と併用したりすることでペプチドワクチン単独療法よりもさらに有効な画期的治療法となりえる可能性を十分に秘めている。日本ではメラノーマの患者は少ないが、日本人に多い癌を対象に、癌特異抗原を用いて培養した CTL の養子免疫療法を開発することで、日本人の癌治療に大きなブレイクスルーが起こることは十分期待できる。われわれも、GPC3 ペプチドを投与された癌患者の末梢血単核球 (PBMC) より、GPC3 ペプチド特異的 CTL を効率よく誘導し増幅させる技術を確立しており、また、たくさんの GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンを樹立している。GMP 準拠の細胞培養施設 Cell Processing Center (CPC) を利用してまずは GPC3 ペプ

チド特異的 CTL 療法の実施を目指している。

VI. 理想的な腫瘍拒絶抗原, HSP105

HSP105 は、ヒトの大腸、膵臓、胆道、食道、咽頭、乳腺、メラノーマなどの多様な癌と正常組織では精巢でのみ高発現を認めるため、抗腫瘍免疫療法の格好のターゲットといえる^{22,23}。HSP105 は HSP105/110 ファミリーに属する高分子の熱ショック蛋白で、われわれが膵癌の SEREX 法（患者血清中の IgG 抗体で癌の cDNA ライブラリーをスクリーニングして抗原を同定する方法）で同定し²⁴、大腸癌でも同定されている。

われわれは、この発現の組織特異性が優れている HSP105 が、理想的な腫瘍拒絶抗原になりえることをさまざまなマウスモデルで検討し報告してきた^{25~27}。さらに GPC3 と同様に、HLA-A24 と HLA-A2 拘束性の CTL エピトープペプチドを各 2 種類ずつ計 4 種類同定した。HLA-A24 と K^d の両方に結合すると予測されるヒト・マウス HSP105 共通のペプチドを HSP105 のシーケンスより選び出し、9 または 10 のアミノ酸からなる 9 種類のペプチドを合成し、これらを BALB/c マウスあるいは HLA-A24 トランスジェニックマウス (Tgm) に免疫して解析し、HLA-A24 結合性 CTL エピトープペプチド (NYGIYKQDL および EYVYE-FRDKL) を同定した。また、HLA-A2 に結合しうる 16 種類のペプチドを合成し、これらを HLA-A2 Tgm に免疫して解析し、HLA-A2 結合性 CTL エピトープペプチド (RLMNDMTAV) を同定した。さらにヒトの HLA-A2 陽性の大腸癌患者の末梢血リンパ球をこれらのペプチドで刺激することで、HSP105 を高発現する癌細胞を高率に傷害できる CTL を誘導できるペプチド (KLMSSNSTDL) を同定した。また、以上のいずれのマウスの実験においても、HSP105 抗原の免疫によって、ペプチド特異的 CTL が誘導され、抗腫瘍効果は認められたが、自己免疫現象は決して誘導されなかった。さらにわれわれは *ex vivo* IFN- γ ELISPOT アッセイを用いて、原発性大腸癌術前患者の 21 例中 14 例 (67%) の末梢血中にこれら 4 種の HSP105 ペプチドのいずれかに特異的な CTL が存在することを示した。現在、膵・胆道癌を含む進行癌患者を対象とした臨床試験を計画中である。

VII. 癌ワクチン療法の臨床導入への問題点

まず、免疫療法自体が、そもそも有望な治療法と思われて来なかったことがブレーキをかけてきた。ペプ

チドワクチンは初めて科学的根拠をもって開発された免疫療法であったが、当初のペプチドワクチンの第 I 相の臨床試験は従来の抗癌剤と同じくもう治療法のないそもそも有効性を証明することが難しい進行癌を対象として実施されてきたため、かえって失望感を与えてしまった。米国 NCI の Rosenberg らの報告²⁾ がさらに追い打ちをかけた。この点に関しては、われわれも含めた日本各地のグループから有効例の報告も増えてきて、エビデンスも次第に証明されつつあり、その結果、国内の製薬企業の参画も出てきた。

製薬企業が本気で参画して開発するかどうかは今後癌ワクチン市場がどうなっていくかの鍵を握っている。そのためには、現時点ではわれわれを含めて日本全国で展開されている医師主導の臨床試験でどれだけの説得力のあるエビデンスを出せるかが一番重要であり、必須であると考えているわけであるが、本来は今回計画中の HSP105 ペプチドワクチン療法の臨床試験のようなものに製薬企業が Phase 0 のところから開発に関わって Phase I から治験で行えればもちろん理想的である。日本にはまだまだ体制も不足しており、現場の医師や研究者が苦勞して医師主導の臨床試験を実施しているのが現状である。今後アカデミアが開発したものを医師主導試験で安全性と有効性のある程度示せないと製薬企業が開発に乗り出さないという現状を、日本でも最初から企業が参画して治験でやる時代に変えられるのかどうか、われわれの施設もまずはそのモデルケースづくりにも挑戦していきたい。

通常、抗癌剤や分子標的薬などの開発において、大規模な治験に行くためには、大金をつぎ込んだ Phase 0 の毒性試験などの実施が必要であるが、ペプチドワクチンのようなものは従来の抗癌剤の Phase 0 より省略できるところも多いと考えられる。多くの臨床試験が安全性を証明している。PMDA 医薬品機構がどれだけ規制緩和してくれるかもポイントである。日本での癌ワクチンの医師主導の臨床試験は、資金面、体制面とも不足しており、そこで有望そうな結果が出たとしても、しっかりとエビデンスを証明できるに至っていなかったため、製薬企業が開発に乗り出さず、大規模にスピード感を持って進まなかった。国家プロジェクトでできるだけ可能性のある多くの臨床試験に対してしっかりとエビデンスを構築できるような惜しみない支援をし、製薬企業が開発意欲をそそる臨床試験を拾い上げられるような仕組みをつくる必要がある。日本中の患者や、紹介する医師側に、現在登録できる臨床試験のリストがいつでも閲覧できるような仕組みも必要である。

おわりに

癌特異抗原を標的とした免疫療法は、理論上、重篤な有害事象は起こりえず、有効性さえ証明できれば、標準的な治療法や補助療法となりうる可能性がある。また将来的にこれらワクチン等の免疫療法により癌の予防法が確立できれば、国内癌患者数の減少に寄与することができ、国民の健康維持に大いに貢献できるものと考えられる。ワクチンはより安価に提供でき、一般の医療施設でもできる治療である。今後示される有効性によっては、抗癌剤治療に頼ってきた癌治療を大きく変える可能性があり、患者のQOLの改善にとっても大きな役割を果たすものと考えられる。まだまだ越えなければいけないハードルは多いが、癌特異的免疫療法が癌治療を変えられる可能性を信じて質の高い研究と臨床試験を繰り返していきたい。

参考文献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Boon T, et al. : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* **254** : 1643-1647, 1991.
- 2) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP : Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. *Nat Med* **10** : 909-915, 2004.
- 3) Oka Y, Tsuboi A, Fujiki F, et al. : WT1 peptide vaccine for the treatment of cancer. *Curr Opin Immunol* **20** : 211-220, 2008.
- 4) Izumoto S, Tsuboi A, Oka Y, et al. : Phase II clinical trial of Wilms tumor 1 peptide vaccination for patients with recurrent glioblastoma multiforme. *J Neurosurg* **108** : 963-971, 2008.
- 5) 岡 芳弘, 杉山治夫 : 造血器および固形悪性腫瘍を標的にしたWT1ペプチドワクチン療法. *Biotherapy* **23** : 170-177, 2009.
- 6) Tsuruma T, Hata F, Torigoe T, et al. : Phase I clinical study of anti-apoptosis protein, surviving-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent colorectal cancer. *J Transl Med* **2** : 19-29, 2004. <http://www.translational-medicine.com/content/2/1/19>
- 7) 鶴間哲弘, 亀嶋秀和, 岩山祐治, ほか : サバイビン2Bペプチドワクチン療法—第I相臨床試験からの知見. *Biotherapy* **23** : 178-184, 2009.
- 8) 峯 孝志 : テーラーメイド癌ペプチドワクチン療法の解析と実用化へ向けて. *Biotherapy* **23** : 185-191, 2009.
- 9) Yajima N, Yamanaka R, Mine T, et al. : Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. *Clin. Cancer Res* **11** : 5900-5911, 2005.
- 10) Uemura H, Fujimoto K, Tanaka M, et al. : A phase I trial of vaccination of CA9-derived peptides for HLA-A24-positive patients with cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma. *Clin Cancer Res* **12** : 1768-1775, 2006.
- 11) 碓 彰一, 吉田 晋, 友近 忍, ほか : 大腸癌に対する新しいワクチン療法の展望. *Biotherapy* **23** : 160-164, 2009.
- 12) 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.
- 13) 小原 航, 兼平 貢, 高田 亮, ほか : 膀胱がん, 新規腫瘍抗原を利用したワクチン療法. *がんペプチドワクチン療法*, 中村祐輔編, 63-70, 中山書店, 2009.
- 14) 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.
- 15) 中面哲也 : 肝細胞がん, 新規腫瘍抗原 (glypican-3<GPC3>)を利用したワクチン療法. *がんペプチドワクチン療法*, 中村祐輔編, 76-83, 中山書店, 2009.
- 16) Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, et al. : Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Comm* **306** : 16-25, 2003.
- 17) 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.
- 18) Komori H, Nakatsura T, Senju S, et al. : Identification of HLA-A2- or -A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy for hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* **12** : 2689-2697, 2006.
- 19) 中面哲也 : ペプチドワクチン, 国内で臨床試験の行われているペプチドワクチン療法GPC3. *Mebio* **27** : 49-55, 2010.
- 20) Dudley ME, Wunderlich JR, Robbins PF, et al. : Cancer regression and autoimmunity in patients after clonal repopulation with antitumor lymphocytes. *Science* **298** : 850, 2002.
- 21) Dudley ME, Yang JC, Sherry R, et al. : Adoptive cell therapy for patients with metastatic melanoma : evaluation of intensive myeloablative chemoradiation preparative regimens. *J Clin Oncol* **26** : 5233-5239, 2008.
- 22) Kai M, Nakatsura T, Egami H, et al. : Heat shock protein 105 is overexpressed in a variety of human

- tumors. *Oncol Rep* **10** : 1777-1782, 2003.
- 23) Muchemwa FC, Nakatsura T, Fukushima S, et al. : Differential Expression of Heat Shock Protein 105 in melanoma and melanocytic naevi. *Melanoma Res* **18** : 166-171, 2008.
- 24) Nakatsura T, Senju S, Yamada K, et al. : Gene cloning of immunogenic antigens over-expressed in pancreatic cancer. *Biochem. Biophys Res Comm* **281** : 936-944, 2001.
- 25) Miyazaki M, Nakatsura T, Yokomine K, et al. : DNA vaccination of HSP105 leads to tumor rejection of colorectal cancer and melanoma in mice through activation of both CD4+ and CD8+ T cells. *Cancer Sci* **96** : 695-705, 2005.
- 26) Yokomine K, Nakatsura T, Minohara M, et al. : Immunization with heat shock protein 105-pulsed dendritic cells leads to tumor rejection in mice. *Biochem Biophys Res Comm* **343** : 269-278, 2006.
- 27) Yokomine K, Nakatsura T, Senju S, et al. : Regression of intestinal adenomas by vaccination with heat shock protein 105-pulsed bone marrow-derived dendritic cells in *Apc^{Min/+}* mice. *Cancer Sci* **98** : 1930-1935, 2007.

* * *

ペプチドワクチン 国内で臨床試験の行われている ペプチドワクチン療法 GPC3

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 がん治療開発部 機能再生室 室長）

Point

- 肝細胞がん特異的ながん胎児性抗原としてGPC3を同定し、GPC3が肝細胞がんの腫瘍マーカーとしても有用であることも示した。
- 進行肝細胞がん患者を対象としたGPC3由来ペプチドワクチンの臨床第Ⅰ相試験の結果、免疫学的効果や臨床的な効果が認められた。無増悪期間中央値は4ヵ月、全生存期間中央値は9ヵ月であった。
- GPC3ペプチドワクチン3回投与で終了した後は末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度は持続せず、4回目以降のワクチンは意味があると考えられた。
- 初回肝細胞がん根治的治療後の再発予防効果を検証する第Ⅱ相試験を実施中であり、腫瘍量が少なく免疫抑制のない患者での検証が行われている。卵巣明細胞腺がんを対象とした第Ⅱ相臨床試験も行われている。
- わが国でのがんワクチンの医師主導の臨床試験は、資金面、体制面とも不足しており、国家プロジェクトでしっかりとエビデンスを構築できるような支援が必要とされる。

がんの免疫療法の概念はすでに19世紀からあった。医師たちはがん患者が細菌に感染すると、がんが小さくなる場合があることに気づいていた。そこ

から生まれたColey's vaccine (toxin) は、時にはがんの完全退縮を得たが、広くは受け入れられなかった。また、がんにはまれではあるが、自然退縮が

起こる。これにはおそらく免疫も関与している。1967年ごろには、がん細胞の自家移植の報告がなされている。手術で得られたがん組織からがん細胞をばらばらにして、1万個、10万個、100万個、1,000万個、1億個とその患者の皮下に移植した結果、進行がんの患者でも1万個は完全に拒絶され、10万個では時に移植が成立し、1億個ではほとんど移植が成立することがわかった。これらの研究結果は、がんに対する免疫の確かな存在と、一方ではその限界も示しているといえよう。

1991年にBoonらにより、ヒトの免疫系ががんを異物として認識し、排除しうること科学的な根拠が与えられた¹⁾ことによって、またがん免疫研究は勢いを盛り返し現在に至っている。現在までに、さまざまながん拒絶抗原およびペプチドが同定され、世界中で臨床試験が進められている。最近では、前立腺がんに対して「Provenge®」という樹状細胞療法がFDAに承認され話題になったが、その他にもいくつかの第Ⅲ相臨床試験での有効性も報告されている。日本国内でもさまざまな施設からがんに対するペプチドワクチンの有効例の報告が散見される。一方では、最近、子宮頸がんの予防ワクチンが話題であるが、免疫療法がより有効であるのは、がんの再発予防や予防であると考えられ、免疫療法を用いた根治治療後の再発予防法やがん発症予防法の開発も必要である。本稿では、われわれが研究している glypican-3 (GPC3) ペプチドを用いたワクチン療法について述べたいと思う。

がん特異的抗原 glypican-3 (GPC3) の同定

われわれは、東大医科研・ヒトゲノムセンターの中村祐輔教授(現国立がん研究センター研究所長)との共同研究により、cDNAマイクロアレイを利用した2万種類を超える遺伝子の肝細胞がんと正常組織における発現解析データを用いて、肝細胞がん特異的ながん胎児性抗原としてGPC3を同定した。GPC3遺伝子および蛋白質は、ほとんどの肝細胞がん組織ならびに細胞株で高発現するが、正常組織においては、胎生期の肝臓あるいは免疫学的に隔離された胎盤でしか発現がみられない。GPC3は肝細胞がんの腫瘍マーカーとしても有用であることも示した²⁾。われわれは、GPC3が理想的な腫瘍拒絶抗原になりうるかどうかを検討した。日本人の約60%が陽性であるHLA-A24とBALB/cマウスのMHCクラスI分子のK^dにはほぼ同じペプチドが結合することがわかっている。さらに、ヒトとマウスのGPC3では93%のホモロジーを認めることから、HLA-A24、K^dのいずれにも結合しうるGPC3由来のペプチドを合成した。これらをBALB/cマウスに免疫して解析し、K^d拘束性のHLA-A24結合性CTLエピートープペプチド(EYILSLEEL)を同定した³⁾。同様にこれらをHLA-A24 transgenic mouse (Tgm)に免疫して解析した結果もやはり、同じCTLエピートープペプチド(EYILSLEEL)が同定された。このHLA-A24結合性GPC3由来ペプチド(EYILSLEEL)を用いて、

ヒトのHLA-A24陽性の肝細胞がん患者の末梢血リンパ球を刺激することで、約半数からGPC3特異的CTLを誘導することができた⁴⁾。GPC3特異的CTL株を、GPC3高発現ヒト肝細胞がん細胞株を移植したヌードマウスに移入して、その治療効果を証明した⁴⁾。また、日本人の40%が陽性で、欧米白人のメジャータイプであるHLA-A2拘束性のCTLエピートープペプチドを同定するために、HLA-A2に結合しうるペプチドを合成し、これらをHLA-A2 Tgmに免疫して解析した。同定したHLA-A2結合性GPC3由来ペプチド(FVGEFFTDV)を用いてヒトのHLA-A2陽性の肝細胞がん患者の末梢血リンパ球を刺激することで、約半数からGPC3特異的CTLを誘導することができた⁴⁾。また、非常に重要なことであるが、以上のいずれのマウスの実験においても、GPC3抗原の免疫によって、ペプチド特異的CTLが誘導され、抗腫瘍効果は認められたが、自己免疫現象は決して誘導されなかった^{3,4)}。

進行肝細胞がん患者を 対象としたGPC3由来 ペプチドワクチンの臨床 第Ⅰ相試験の結果

平成19年2月、臨床第Ⅰ相試験をスタートし、平成21年11月に完了した。

1回の投与量を0.3、1、3、10、30mgの5段階とし、2週間おきに3回、左右の腋窩部、腹部および鼠径部の皮内に不完全フロイントアジュバント(incomplete Freund's adjuvant; IFA)とともに、安全性を確認しながら

有害事象	Grade 1	Grade 2
アレルギー反応(潮紅あるいは皮疹) 24(80%)	投与時の一過性の潮紅 22(73.3%)	異所性の皮疹あるいは潮紅 2(6.7%)
アレルギー反応(薬剤熱) 6(20%)	<38℃の薬剤熱 3(10%)	≥38℃の薬剤熱 3(10%)
注射部位の反応 30(100%)	掻痒；紅斑 30(100%)	炎症反応を伴う疼痛や腫脹 0
掻痒 5(16.7%)	軽度または限局性の掻痒 5(16.7%)	激しいまたは広範囲の掻痒 0

表1 CTCAE v3.0による有害事象の評価(計30例中の出現頻度)

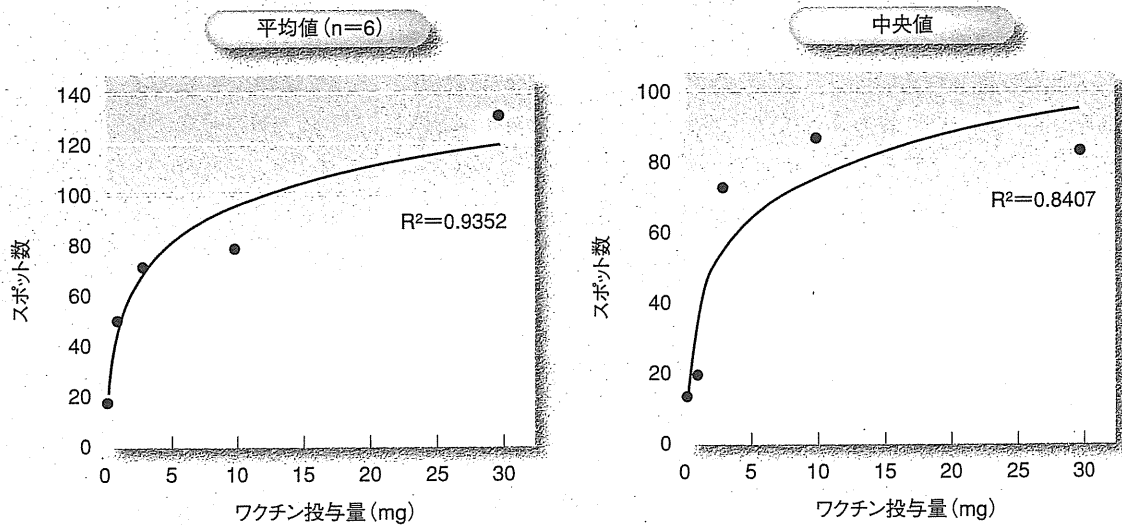


図1 ワクチンの投与量と投与後GPC3特異的CTLの頻度の最大値の相関

用量を増して投与した。

合計30症例全例に用量規制毒性(dose limiting toxicity ; DLT)は発現せず、安全性に問題はないと判断された。投与時の一過性の潮紅は24例(80%)に認められ、うち1例には一過性の異所性の皮疹、1例には一過性の広範の潮紅を認めた。発熱は37.5℃

以上が6例で、うち38℃以上が3例にみられたがいずれも一過性で、解熱剤の使用を要しなかった。注射部の紅斑は30例全例にみられ、うち5例には軽度の掻痒があり、クロタミトン(オイラックス®)クリームを処方した。炎症反応を伴う疼痛や腫脹は認められなかった(表1)。

免疫学的解析を実施した全30例中27例(90%)に末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度の増加が検出され、その頻度は投与量依存性に増加しており(図1)、免疫学的有効性も確認された。7例ではワクチン後の腫瘍の生検を行い、うち5例でワクチン前の腫瘍内には浸潤していなかったCD8陽性

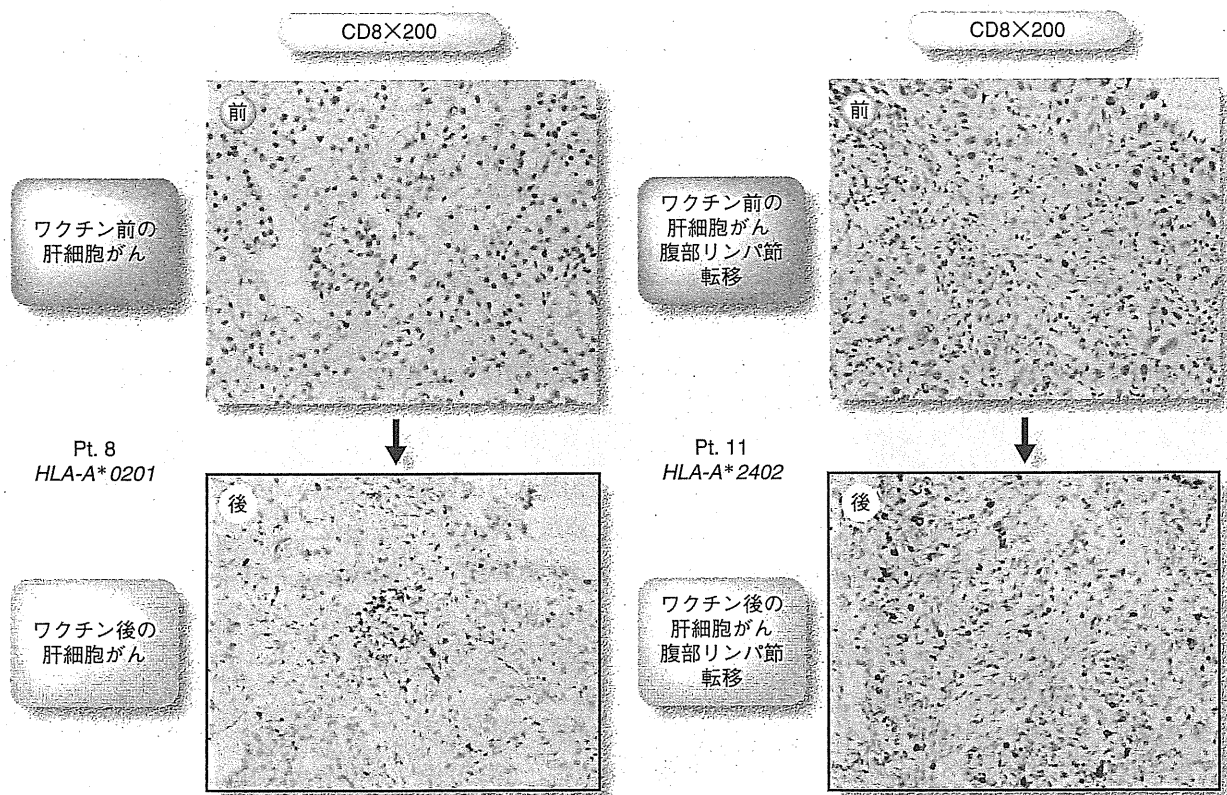


図2 ワクチン前の腫瘍内には浸潤していなかったCD8陽性キラーT細胞がワクチン後の腫瘍内に多数浸潤している2例

のキラーT細胞がワクチン後の腫瘍内に多数浸潤している像も観察できた(図2)。

3回のワクチン投与後1ヵ月後のCTのRECIST version 1.0での評価では、30人中1人がpartial response ; PR(図3)、18人がstable disease ; SD (SD以上63.3%)で、11人はprogression disease ; PDであったが、その内訳は0.3mgの6人中3人(50.0%)、1.0mgでは6人中4人(66.7%)、3.0mgでは6人中4人(66.7%)、10mgでは6人中4人(66.7%)、30mgでは6人中1人の

PRを含む4人(66.7%)がSD以上であり、0.3mgの1人、3.0mgの3人、30mgの1人の計5人には腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小などの所見も認められた。経過中に一度でもAFP、PIVKA-II、あるいはGPC3の腫瘍マーカーの低下がみられた症例は、29例中22例(75.9%)で、その内訳は、0.3mgの6人中1人(16.7%)、1.0mgでは6人中4人(66.7%)、3.0mgでは5人中5人(100%)、10mgでは6人中6人(100%)、30mgでは6人中6人(100%)と、臨床効果に関しても投与

量に依存して増加する傾向が示唆された(表2)。

腫瘍量も多く免疫抑制もかかっている患者が多いと考えられる(実際、サイトメガロウイルス由来のペプチドに反応するキラーT細胞の頻度が少ない患者も多かった)今回の進行肝細胞がんの対象に対してわずか3回のワクチン投与で、以上に示したように、免疫学的効果や臨床的な効果が認められた。

全30例の最終結果においても、DLTは1例も発生せず、GPC3ペプチ

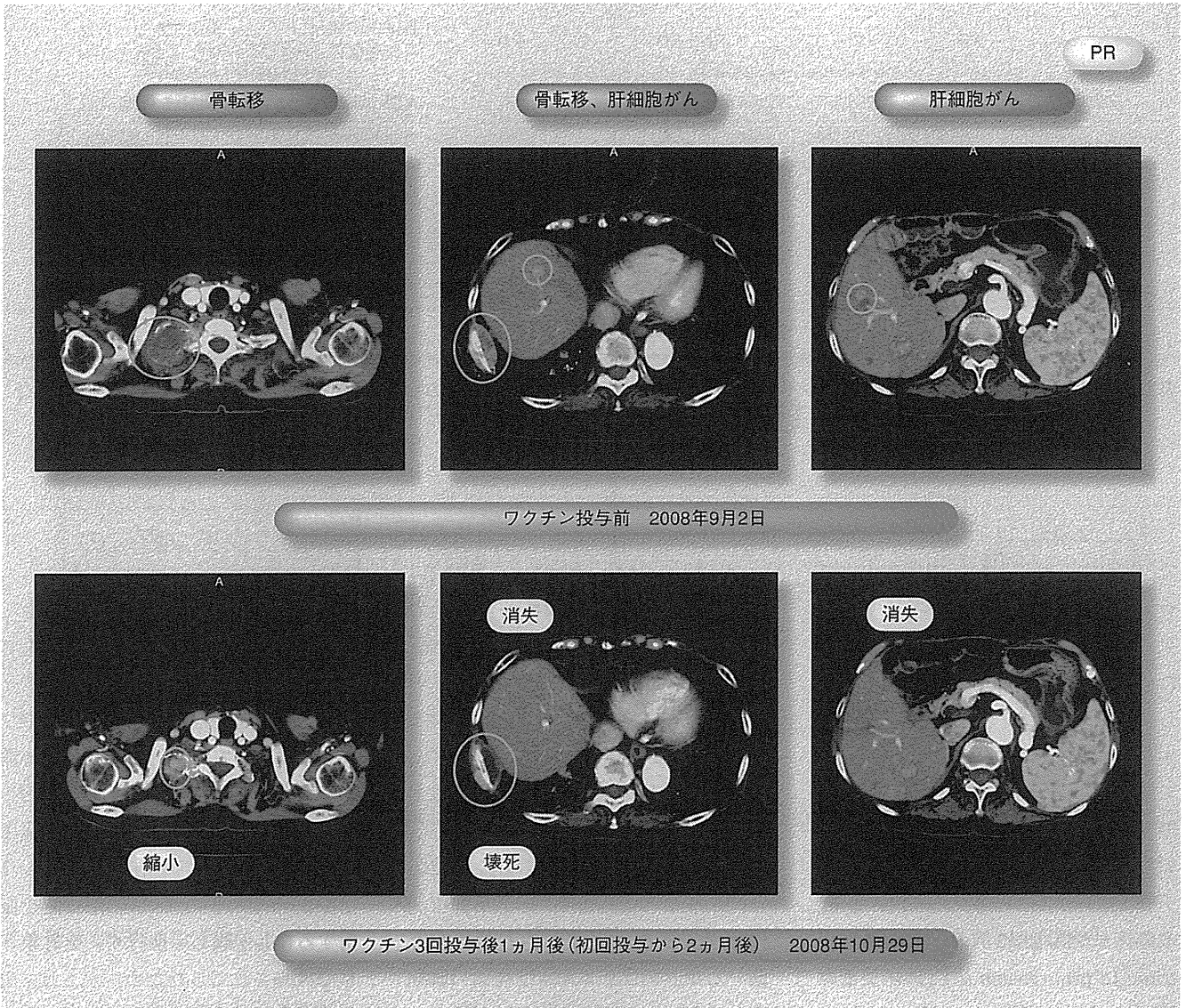


図3 Pt. 24 75歳女性 多発肝細胞がん、骨転移、肺転移、リンパ節転移 HLA-A* 0207/1101
 HLA-A2 glypican-3 ペプチドワクチン療法：1回30mg、3回投与により著明な臨床効果出現

ドワクチンの安全性は証明されたが、DLTを基に推奨用量を決定することはできなかった。30mg投与の1例にPRの臨床効果が認められたこと、腫瘍マーカーならびに免疫学的モニタリングの結果において用量依存性が認められたことから高用量投与の優位性が

示唆されたものの、30mg投与例では、Grade 2の有害事象が全体の30例中5例(0.3mg投与に1例、3.0mg投与に1例)に対して6例中3例(発熱2例、広範な潮紅1例)と高頻度に認められたこと、3.0mg投与の10倍量の6mLも

の量を皮内に投与するため投与手技が煩雑なうえ、患者の苦痛も大きく、投与部位の発赤・硬結が同じGrade 1でも6例中4例では明らかに大きかったことから、その臨床効果と合わせて考えるとGPC3ペプチドワクチンの推奨投与量は3.0mgが妥当であると判断した。

	PR	SD	PR+SD	PD	腫瘍内の壊死、 一部腫瘍の縮小	腫瘍マーカーの低下 がみられた症例
0.3mg	0	3	3 (50.0%)	3	1	1/6 (16.7%)
1.0mg	0	4	4 (66.7%)	2	0	4/6 (66.7%)
3.0mg	0	4	4 (66.7%)	2	3	5/5 (100%)
10mg	0	4	4 (66.7%)	2	0	6/6 (100%)
30mg	1	3	4 (66.7%)	2	1	6/6 (100%)
計	1	18	19 (63.3%)	11	5	22/29 (75.9%)

表2 3回のワクチン投与後1ヵ月後のCTのRECIST version 1.0での評価と、腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小がみられた症例数、および、経過中に一度でもAFP、PIVKA-II、あるいはGPC3の腫瘍マーカーの低下がみられた症例数

また、2週間に1回の3回皮内投与で30例中27例において末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度が増加する効果は認められたものの、3回投与で終了した後はその頻度は30例中25例で減少し持続しなかった。継続投与を可能とするプロトコール改訂後、12例において継続投与を実施したが、そのうち9例で末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度の増加を認め、4回目以降のワクチンは意味があると考えられた。また、本臨床試験参加30例の、無増悪期間 (time to progression ; TTP) 中央値は4ヵ月、全生存期間 (overall Survival : OS) 中央値は9ヵ月であった。

現在実施中もしくは 計画中のGPC3ペプチド ワクチン療法臨床試験

このようなワクチン療法は元来、腫瘍がない、あるいはCTで見えない腫瘍があったとしても腫瘍量が少ない状態でこそ威力を発揮すると考えら

れ、現在、手術やラジオ波焼灼療法 (radiofrequency ablation ; RFA) による初回肝細胞がん根治的治療後の再発予防効果を検証する第II相試験を実施中である。進行肝細胞がん患者にとって有用であるかを検証する第II相試験としては、ソラフェニブとGPC3ペプチドワクチンの併用療法とソラフェニブを比較する非盲検多施設共同ランダム化比較第II相臨床試験と、GPC3ペプチドワクチン単独療法の腫瘍局所での免疫学的有効性を評価する第II相臨床試験の2種類の試験を計画している。

GPC3は肝細胞がんだけでなく、一部の小児がん (肝芽腫、神経芽腫、腎芽腫)、卵巣明細胞腺がん、肺扁平上皮がんにも発現しており、それらのがん種に対しての応用も期待される。卵巣明細胞腺がんを対象とした第II相臨床試験はすでに名古屋大学で開始されている。GPC3を発現する小児がんおよび肺扁平上皮がんを対象とした臨床試験も計画している。

がんワクチン療法の 臨床導入への問題点

まず、免疫療法自体が、そもそも有望な治療法と思われてこなかったことがブレーキをかけてきた。ペプチドワクチンは初めて科学的根拠をもって開発された免疫療法であったが、当初のペプチドワクチンの臨床第I相の臨床試験は従来の抗がん剤と同じくもう治療法のない、そもそも有効性を証明することが難しい進行がんを対象として実施されてきたため、かえって失望感を与えてしまった。米国NCIのRosenberg SAらが、2004年のNat Med.にがんワクチンのReviewとして、440例中complete response ; CR、PRのresponse rateはわずか2.6%であったと報告した⁵⁾ことがさらに追い討ちをかけた。この点に関しては、われわれも含めた日本各地のグループから有効例の報告も増えてきて、エビデンスも次第に証明されつつあり、その結果、国内の製薬企業の参画も出

てきた。

製薬企業が本気で参画して開発するかどうかは、今後がんワクチン市場がどうなっていくかの鍵を握っている。そのためには、われわれを含めて日本全国で展開されている医師主導の臨床試験でどれだけの説得力のあるエビデンスを出せるかがもちろん一番重要であり、必須である。そのためには資金も必要である。

通常、抗がん剤や分子標的治療薬などの開発において、大規模な治験に行くためには、大金をつぎ込んだPhase 0の毒性試験などの実施が必要であるが、ペプチドワクチンのようなものは従来の抗がん剤のPhase 0より省略できることも多いと考えられる。多くの臨床試験が安全性を証明している。医薬品医療機器総合機構(PMDA)がどれだけ規制緩和してくれるかもポイントである。

わが国でのがんワクチンの医師主導

の臨床試験は、資金面、体制面とも不足しており、そこで有望そうな結果が出たとしても、しっかりとしたエビデンスを証明できるに至っていないため、製薬企業が開発に乗り出さず、大規模にスピード感をもって進まなかった。例えば、国家プロジェクトでできるだけ可能性のある多くの臨床試験に対してしっかりとエビデンスを構築できるような惜しみない支援をし、製薬企業が開発意欲をそそる臨床試験を拾い上げられるような仕組みをつくる必要がある。日本中の患者や、紹介する医師側に、現在登録できる臨床試験のリストがいつでも閲覧できるような仕組みも必要であろう。

おわりに

がん特異抗原を標的とした免疫療法は、理論上、重篤な有害事象は起

こりえず、有効性さえ証明できれば、標準的な治療法や補助療法となりうる可能性がある。また将来的にこれらワクチンなどの免疫療法によりがんの予防法が確立できれば、国内がん患者数の減少に寄与することができ、国民の健康維持に大いに貢献できるものと考えている。ワクチンはより安価に提供でき、一般の医療施設でもできる治療である。今後示される有効性によっては、抗がん剤治療に頼ってきたがん治療を大きく変える可能性があり、患者のQOLの改善にとっても大きな役割を果たすものと考えている。まだまだ越えなければいけないハードルは多いが、がん特異的免疫療法ががん治療を変える可能性は十分にあるのではないだろうか。

文献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, et al. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 1991; 254: 1643-7.
- 2) Nakatsura T, Yoshitake Y, Senju S, Monji M, Komori H, Motomura Y, et al. Glypican-3, overexpressed specifically in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Commun* 2003; 306: 16-25.
- 3) Nakatsura T, Komori H, Kubo T, Yoshitake Y, Senju S, Katagiri 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* 2004; 10: 8630-40.
- 4) Komori H, Nakatsura T, Senju S, Yoshitake Y, Motomura Y, Ikuta Y, et al. Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 2689-97.
- 5) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP. Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med* 2004; 10: 909-15.

免疫療法

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 中面 哲也

はじめに

がんの3大治療は、未だに切除手術、抗がん剤による化学療法、放射線治療である。がんの免疫療法が第4の治療法と期待されて久しい。

がんの免疫療法の概念はすでに19世紀からあった。医師たちはがん患者が細菌に感染すると、がんが小さくなる場合があることに気づいていた。そこからColey's vaccine (toxin) が生まれた。時にはがんの完全退縮を得たが、いつも同じ結果が出たわけではなかった。広くは受け入れられなかった。また、がんにはまれではあるが、10万例に1例くらいの頻度で自然退縮が起こる。これにはおそらく免疫も関与している。また、私が生まれた1967年のころには、今では考えられないが、がん細胞の自家移植の報告がなされている。手術で得られたがん組織からがん細胞をばらばらにして、1万個、10万個、100万個、1000万個、1億個とその患者の皮下に移植するのである。その結果、進行がんの患者でも1万個は完全に拒絶され、10万個では時に移植が成立し、1億個ではほとんど移植が成立することが分かった。この研究結果は、がんに対する免疫の確かな存在と、一方ではその限界も示していると言えよう。

がん免疫研究の歴史はしばしばサインカーブに例えられるように、一喜一憂を繰り返してきた。モノクローナル抗体やサイトカインの出現時はそれだけでがんが治るのではとい

う期待が一気に高まったが、がんは手ごわかった。現在では、一部の腫瘍抗原に対するモノクローナル抗体による免疫療法が標準化しているに過ぎない。1991年にBoonらにより、ヒトの免疫系ががんを異物として認識し、排除しうることによって、またがん免疫研究は勢いを盛り返し現在に至っている。

現在までに、さまざまながん拒絶抗原およびペプチドが同定され、海外では、各種がんの効果的ながん抗原ペプチド、タンパク質、遺伝子、ウイルスベクター、患者自己腫瘍由来抗原タンパク質、がん抗原感作樹状細胞を利用したがんワクチンの開発が精力的に行われ、臨床試験が進められている。最近では、前立腺がんに対して「Provenge」という樹状細胞療法がFDAに承認され話題になったが、その他にもいくつかの第3相臨床試験の有効性も報告されている。日本国内でもさまざまな施設からがんに対するペプチドワクチンの有効例の報告が散見される。

一方では、最近、子宮頸がんの予防ワクチンが話題であるが、免疫療法がより有効であるのは、がんの再発予防や予防であると考えられ、免疫療法を用いた根治治療後の再発予防法やがん発症予防法の開発も必要である。果たして、がんの免疫療法は今後、期待にどこまで応えられるのであろうか？ 研究者たちの試行錯誤が続いている。がん免疫療法といっても幅広く、さまざまなものが存在するが、本稿では、我々が主に研究しているがん