

201136009A

厚生労働科学研究費補助金
難病・がん等の疾患分野の医療の実用化研究事業（がん関係研究分野）

小児の肉腫や脳腫瘍等に対する
がんペプチドワクチン単剤療法の開発
に関する研究

平成 23 年度 総括研究報告書

研究代表者 中面 哲也

平成 24 (2012) 年 3 月

目 次

I. 研究班構成員名簿	1
II. 平成 23 年度総括研究報告	
小児の肉腫や脳腫瘍等に対するがんペプチドワクチン単剤療法の開発	3
研究代表者 中面 哲也	
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	11
IV. 研究成果の刊行物・別刷	13

I. 研究班構成員名簿

小児の肉腫や脳腫瘍等に対するがんペプチドワクチン単剤療法の開発
に関する研究班（平成 23 年度）

区分	氏名	所属	職名
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 がん治療開発部 機能再生室	室長
研究分担者	細野 亜古 原 純一 木下 義晶 塩田 曜子 金森 豊 孝橋 賢一 吉村 健一	国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 大阪市立総合医療センター 九州大学大学院医学研究院 小児外科分野 国立成育医療研究センター 腫瘍科 国立成育医療研究センター 臓器・運動器病態外科部 九州大学大学院医学研究院 形態機能病理学 京都大学医学部附属病院 探索医療センター検証部	医長 副院長 准教授 医員 医長 助教 特定助教
研究協力者	牧本 敦 河本 博 大津 敦 佐藤 暁洋 芝崎 康宏	国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 臨床試験支援室 国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 臨床試験支援室	科長 医員 センター長 室長

Ⅱ. 平成 23 年度総括研究報告

小児の肉腫や脳腫瘍等に対するがんペプチドワクチン単剤療法の開発

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

小児がんの発生数は年間3000人ほど（小児人口1万人に1人）で、非常に稀な病気であるが、3歳以上の子どもの死亡原因のなかでは、事故に次ぐ第2位の座をいまだに占めている。小児がんは医学の進歩によって70～80%の症例で治癒が見込めるようになったが、手術や放射線、化学療法などによる従来型の集学的治療のみでは20～30%が原病死する。このような難治性の小児腫瘍に対する有効な治療手段の確立は急務である。

本研究では、小児がんの中でも比較的对象も多く予後も不良な神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫を対象に、GCPに準じた臨床試験体制の下で、薬事承認につなげるためのペプチドワクチン療法の第I相の医師主導治験を実施する。神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫を対象に、それらのがんを高発現している3種類の抗原（KOC1、FOXMI、KIF20A）由来のがんペプチドカクテルワクチン療法の医師主導治験を実施し、科学的エビデンスを創出することを目的としており、当該ペプチドワクチンの大手製薬企業への導出、企業治験の実施、医薬品としての承認申請までの道のりを一気に短縮することを目指している。

本事業では治験での実施を目指して薬事戦略相談を行うことが義務付けられ、我々は当該臨床試験を治験で実施する手続きを進めるとともに、薬事戦略相談を行うことを前提に、23年度は10月と11月に2回の事前面談を実施した。さらに、当該事前面談を踏まえ、平成24年2月20日に非臨床試験成績の充足性を主な相談事項として薬事戦略相談を行った。不足を指摘された非臨床試験を追加して、また、指摘された事項をプロトコールに組み込んで、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、治験開始届を提出して平成24年度早い段階での治験開始を目指す。開始後は迅速な症例登録により、早期の症例登録終了を目指し、平成25年度の本研究費最終年度終了時には十分な成果を報告できるよう努める。状況に応じて、小児の脳腫瘍や白血病のペプチドカクテルワクチン療法の開発も視野に入れる。

本研究では、希少性の高い各種小児がんを対象に、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指す。本研究班は日本を代表する研究機関の小児がんエキスパート、臨床試験や生物統計の専門家を研究分担者とした強力な研究体制を構築しており、質の高い臨床試験の遂行が見込まれる。

研究分担者

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	河本 博	国立がん研究センター中央病院 小児腫瘍科 医員
原 純一	大阪市立総合医療センター 副院長	大津 敦	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター センター長
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	佐藤 暁洋	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 臨床試験支援室 室長
塩田 曜子	国立成育医療研究センター 腫瘍科 医員	芝崎 康宏	国立がん研究センター東病院 臨床開発センター 臨床試験支援室
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		
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		
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		

研究協力者

牧本 敦 国立がん研究センター中央病院
小児腫瘍科 科長

A. 研究目的

希少性の高い各種小児がん、特に肉腫、脳腫瘍等
を対象に、それぞれに最適な有効性の高いがんペ
プチドワクチン単剤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に資することを目的

とする。申請者は、肝細胞がんのがん胎児性抗原 glypican-3(GPC3)を同定し、基礎研究の成果を基に、国立がん研究センター東病院において進行肝細胞がん患者を対象に GPC3 ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験を実施し、安全性と免疫学的有効性ならびに臨床効果を確認、製薬企業への導出を成功させている。平成 23 年度は小児がんにおいても医療技術実用化総合研究事業（3 年計画の最終年度）で、同ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験を開始、実施する。一方、GPC3 を発現する小児がんは、肝芽腫、腎芽腫、卵黄嚢腫瘍などに限られており、罹患率が高く、予後も比較的不良な神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫、脳腫瘍などがんペプチドワクチン療法の開発が切望されていた。申請者が分担研究をしている先端医療開発特区（スーパー特区）の「迅速な創薬化を目指したがんペプチドワクチン療法の開発」（研究代表：中村祐輔）において東大医科研ヒトゲノムセンターを中心に同定、開発され、研究機関・企業が知財を有する GMP グレードのペプチドワクチンを用いて、まずは神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫などを対象に、GCP に準じた臨床試験体制の下で、薬事承認につなげるための第 I 相の医師主導臨床試験を実施する。治験を目指して戦略薬事相談を行い、当該臨床試験を、治験ないしは高度医療評価制度で実施する手続きを進める。本研究では、3 年間の研究期間内に、小児がんの中でも神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫などを対象に、それらがんに高発現している 3 種類の抗原（KOC1、FOX1、KIF20A）由来のがんペプチドワクチンのカクテル療法の臨床試験を実施し、科学的エビデンスを創出することを目的としており、当該ペプチドワクチンの大手製薬企業への導出、企業治験の実施、医薬品としての承認申請までの道のりを一気に短縮することを目指す。本研究班は日本を代表する研究機関の小児がんエキスパート、生物統計の専門家を研究分担者とした強力な研究体制を構築しており、質の高い臨床試験の遂行が見込まれる。

B. 研究方法

再発小児腫瘍（神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫など）に対する腫瘍での抗原発現が非常に高い 3 種類のがんペプチドワクチンの同時接種の第 I 相臨床試験（H23-25 年度）

（中面、細野、原、木下、塩田、金森、孝橋、吉村）

目的： 治癒が見込めない小児～若年成人期の固形腫瘍患者のうち、神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫などを対象に、発現が非常に高い確率で認められる 3 種類のがん抗原（KOC1、FOX1、KIF20A）由来ペプチドワクチンを用いて、カクテル療法として一括接種する場合の安全性、および、特異的免疫

に対しての用量反応性を検討する。

ペプチドの選択： 事前予備研究にて、神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫の生検もしくは手術検体を対象に、国内研究機関・企業が知財を有し GMP グレードでの生成可能なペプチドが由来する 7 種類の抗原の発現を免疫組織化学的解析により確認し、神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫のいずれでも高い確率で発現が確認される 3 種類のがん抗原（KOC1、FOX1、KIF20A）由来のペプチドを選択済みであり、この 3 種ワクチンの一括接種を開発対象の 1 つと決定した。

試験対象： 30 歳未満の再発小児固形腫瘍（神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫など）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 年未満と報告のある状態。現在、骨肉腫等も対象となるか、免疫組織化学的解析により検討中である。

主要評価項目： 週に 1 回で 8 回接種する期間の用量制限毒性（DLT）の発現

副次的評価項目： 毒性プロファイル、奏効割合、無増悪生存期間、生存期間 等

Proof of principle： 末梢血中ペプチド特異的 CTL 数の増加、参加者腫瘍検体でのペプチドが由来するがん抗原の発現 等

試験デザイン： 1 つ 1 つのペプチドワクチンについて現在成人で実施されている臨床試験での接種量（いずれも 1mg あるいは 2mg、低年齢児は半量）を規準にした、2 用量レベルでの増量試験。用量レベルあたりの症例数を 20 例、増量規準を DLT 発現数 2 例以下（片側 $\alpha = 5\%$ で DLT 発現割合 28% 以上を棄却）と設定。DLT 発現割合の閾値 30% 以上とすると期待する 0~2% に対する検出力は 90% 以上。症例数は最大（増量が可能だった場合） $20 + 20 = 40$ 例。この症例数であれば副次的評価項目や Proof of principle の評価においても一定の精度を保証できる。

治療方法： 最初の 8 週間は 1 週間毎、その後は 2 週間毎にペプチドワクチンカクテルを外来にて接種する。毒性で継続不能もしくは腫瘍の増悪にて他治療を開始する場合まで治療継続。

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日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、大阪市立総合医療センター、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 2 年、追跡期間 0.5 年。

制度対応： できれば治験での実施を目指して、薬事戦略相談を行う。H23 年 10 月 14 日に 1 回目の事前面談を終了。2 回目の事前面談ののち、対面助言に進む。治験で実施可能な場合は、23 年度は治験届のための準備を進め、24 年度に治験届を行い、早期実施を目指す。治験での実施が不可能な場合は、23 年度中に高度医療評価制度に申請、早期の承認を目指す。承認後は主任施設での IRB 承認を経て、登録を開始し、25 年度前半中に登録終了、結果公表およびライセンスアウトできた場合に企業治験準備に移行することを目指す。

[倫理面への配慮]

GCPの遵守

本治験は本治験実施計画書、薬事法第14条第3項および第80条の2の規定ならびに平成9年3月27日付厚生省令第28号、平成15年6月12日付厚生労働省令第106号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令」（改正GCP）、平成15年6月12日付医薬発第0612001号「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令の一部を改正する省令の施行について」および平成16年7月22日付薬食審査発第0722014号「医薬品の臨床試験の実施の基準の運用について」を遵守し、医師主導治験として実施する。実施に際しては、ヘルシンキ宣言の倫理的原則を遵守して、被験者の人権、福祉および安全を最大限に確保する。

治験審査委員会（IRB）

本治験は各実施医療機関が設置した治験審査委員会において審査され、承認された後に実施する。また、本治験実施中においては、年に1回または治験審査委員会の求めに応じてそれ以上の頻度で、治験の継続の可否について審査を受ける。

治験計画の届け出

本治験においては、各実施医療機関の長が治験審査委員会の意見に基づいて治験の実施を了承した後に、薬事法第80条の2に基づき各実施医療機関の治験責任医師が“自ら治験を実施する者”として連名で厚生労働大臣に治験の計画を届け出た上で実施する。

被験者の同意

治験責任医師は、治験への参加の同意を得るために用いる同意・説明文書およびその他の説明文書を作成する。これらの文書の使用にあたっては、あらかじめ治験審査委員会の承認を得る。なお、原則として小児の被験者から法的に定められた同意を得ることはできないため、代諾者（親権者または後見人）より同意を得ることとするが、可能な限り被験

者本人からもアセントを取得する。

被験者のプライバシー保護

被験者のプライバシー保護の観点から、本治験中は全てのデータを被験者識別コードのみで特定する。データは解析の全過程においても同様にマスクして処理する。なお、本治験への登録に際しては被験者識別コードにより症例を特定し、登録後は登録センターより割り振られた症例番号で特定する。

治験責任医師／治験分担医師は、原資料等の直接閲覧または治験成績の公表があること、および直接閲覧または治験成績の公表により被験者のプライバシーが侵されることはないことを、あらかじめ被験者または代諾者に説明し、同意を得る。

安全性情報の管理と提供

本治験に用いる全ての薬剤（ペプチド）の安全性等に関する新たな情報を得た場合、治験調整医師は必要に応じて他の実施医療機関の治験責任医師に文書にて報告する。必要な場合には、治験責任医師から当該実施医療機関の長にも文書にて報告する。国内および海外治験における安全性情報については、委託先のCROと治験実施企業とが密な連携をとり迅速な情報共有を行う体制が構築済みである。

重篤な有害事象が発生した場合の措置

治験責任医師／治験分担医師は、有害事象を認めた場合、被験者のリスクを最低限にするよう、速やかに適切な診断と処置を行う。同時に下記に該当する重篤な有害事象と判断した場合には速やかに当該実施医療機関の長および治験調整医師に文書を用いて報告する。治験調整医師は情報を入手後、すみやかに他の治験責任医師ならびに治験薬提供者に報告する。また、薬事法施行規則第273条に基づき、厚生労働大臣への報告の必要性を判断する。

当該治験責任医師／治験分担医師は、試験の継続等について当該実施機関の治験審査委員会の意見に基づき、当該実施医療機関の長の指示を受ける。また、発現した有害事象については、可能な限り追跡調査を行い、必要な場合には追加報告書を治験調整医師に報告し、治験調整医師は初回報告と同様に扱う。

治験調整医師および各治験責任医師は、効果安全性評価委員会に対し、重篤な有害事象の報告を行うと共に、治療の継続、変更または中止について諮問できる。

健康被害に関する補償

本治験は、現在までの医学的知見と被験者の疾患の状態を鑑み、被験者にとって有用な治療法であると判断されて実施される。ただし、本治験が対象としている疾患の特性、治療の特性を鑑み、治療に関連した死亡を含む健康被害はやむをえず発生することが予測される。治験責任医師／治験分担医師は、治験で発生した健康被害に対し、その治療に関する

医療体制の提供など必要かつ適切な処置を行う。

通常、健康被害に対する治療費等の補償金は医薬品副作用被害救済制度に基づいて支払われるが、抗癌剤は当該制度対象外医薬品のため、本治験に起因した健康被害に対する補償金は支払われない。

さらに動物実験に際しては、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る。

C. 研究結果

当初の研究計画では、「予後も比較的不良な神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫などを対象に、研究機関・企業が知財を有するGMPグレードのペプチドワクチンを用いて、GCPに準じた臨床試験体制の下で、薬事承認につなげるための第I相の医師主導臨床試験を実施する。治験での実施を目指して戦略薬事相談を行い、当該臨床試験を、治験ないしは高度医療評価制度で実施する手続きを進める。」としていた。本事業では治験での実施を目指して薬事戦略相談を行うことが義務付けられ、23年度は当該臨床試験を治験で実施する手続きを進めるとともに、薬事戦略相談を行うことを前提に、10月と11月に2回の事前面談を実施した。当該事前面談を踏まえ、医師主導治験での実施可能な手ごたえを得て、平成24年2月20日に非臨床試験成績の充足性を主な相談事項として薬事戦略相談を行った。平成24年度早い段階での治験開始を目指している。

23年度は、骨肉腫においても免疫染色においてKOC1、FOXM1、KIF20A 抗原蛋白の発現を確認し、対象を神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫の4疾患にした。KOC1、FOXM1、KIF20A 由来のHLA-A24 結合性の3種類の Good Manufacturing Practice (GMP) グレードのペプチドを米国 PolyPeptide Laboratories 社に作製を依頼し、薬監証明を取得して輸入した。当院の治験薬 GMP 準拠の Cell processing center (CPC) 内でペプチド製剤、IFA 製剤を作製する方針を決定し、様々な検討、手順書の作成等により、治験薬として実施施設に提供できる準備を整えた。また、GCP を遵守した治験の体制を構築するための検討を重ね、国立がん研究センター東病院臨床試験支援室と委託先の医薬品開発業務受託機関 (CRO) の役割を明確にした。

再発小児腫瘍を対象としたがんペプチドカクテルワクチン療法の第I相臨床試験医師主導治験

(H24-25年度) (中面、細野、原、木下、塩田、金森、孝橋、吉村、佐藤、芝崎)

薬事戦略相談の結果、不足を指摘された非臨床試験を追加して、また、指摘された事項をプロトコルに組み込んで、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、治験開始届を提出して平成24年度早い段階での治験開始を目指す。開始後は迅速な症例登録により、早期の症例登録終了を目指し、平成25年度の本研究費最終年度終了時には十分な成果を報告できるよう努める。

現時点でのプロトコルを以下に示す。

目的: 治癒が見込めない小児～若年成人期の固形腫瘍患者のうち、HLA-A*24:02が陽性である、再発または難治性神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫患者を対象に、発現が非常に高い確率で認められる3種類のがん抗原 (KOC1、FOXM1、KIF20A) 由来ペプチドワクチンを用いて、カクテル療法として一括接種する場合の安全性・有効性と実行可能性を検討する。

ペプチドの選択: 免疫染色において、KOC1蛋白、FOXM1蛋白については、神経芽腫5例中5例、ユーイング肉腫5例中5例、横紋筋肉腫6例中6例、骨肉腫5例中5例、KIF20A蛋白については、神経芽腫5例中4例、ユーイング肉腫5例中5例、横紋筋肉腫6例中6例、骨肉腫5例中5例で発現を確認している。ほとんどの神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫にKOC1、FOXM1、KIF20A蛋白発現が確認されることから、これらの症例に対して上記3種類抗原蛋白由来ペプチドワクチン療法開発が可能と判断した。

試験対象: 治癒の見込めない、再発神経芽腫、ユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫患者

主要評価項目: 週に1回で8回接種する期間の用量制限毒性 (DLT) の発現

副次的評価項目: 毒性プロファイル、奏効割合、無増悪生存期間、生存期間 等

Proof of principle: 末梢血中ペプチド特異的CTL数の増加、参加者腫瘍検体でのペプチドが由来するがん抗原の発現 等

投与量と試験デザイン:

用量レベル	体重 20kg 未満	体重 20kg 以上
レベル -1	0.25 ml	0.5 ml
レベル 1	0.5 ml	1 ml

(1 ml中に各ペプチドワクチンが2 mgずつ配合されている3ペプチド配合剤を使用する)

各ペプチド2 mgを基本とする体重調整投与量で開始して本用量での安全性及び実施可能性を評価し、本用量で問題があると判断された場合に限り1レベル下 (用量レベル-1) で、過小な量とならない範囲と考えられる各ペプチド1 mgを基本とする体重調整投与量での安全性及び実施可能性を評価する。

治療方法： 最初の8週間は1週間毎、その後は2週間毎にペプチドワクチンカクテルを外来にて接種する。毒性で継続不能もしくは腫瘍の増悪にて他治療を開始する場合まで治療を継続する。

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。

試験実施施設と研究分担者の役割： 臨床試験：国立がん研究センター東病院、国立がん研究センター中央病院（細野兼任）、大阪市立総合医療センター（原）の3施設での実施を予定。九州大学病院（木下）、国立成育医療研究センター（塩田、金森）は実施可能性を検討するとともに本臨床試験への登録等に協力する。がん抗原の発現の検査：九州大学（孝橋）。製剤の作成・提供、非臨床試験、免疫学的解析：国立がん研究センター東病院（中面）。症例数算定・試験デザイン、疫学・生物統計：京都大学（吉村）。GCP試験の体制整備：国立がん研究センター東病院（佐藤）。PMDAとの相談：国立がん研究センター東病院（芝崎）。

予定登録数と試験期間： 本臨床試験全体で10例ないし20例とする。登録期間1年、追跡期間1年。

D. 考察

小児がんは医学の進歩によって70～80%の症例で治癒が見込めるようになったが、手術や放射線、化学療法などによる従来型の集学的治療のみでは20～30%が原病死する。また、治癒した小児の中には、放射線、化学療法などによる様々な晩期障害に苦しんでいる例も少なくない。このような難治性の小児腫瘍に対する有効な治療手段の確立は急務である。

最近脚光を浴びている分子標的治療薬は高額であり、医療費の高騰を招き財政を圧迫しているばかりでなく、新たな有害事象の発生や無効例も多いことが問題であるが、免疫療法はこれらの諸問題を克服できる新規治療法となりうる可能性がある。未来を担う小児を一人でも多く救済できる治療を開発することは、福祉を超えた意義をもつ重要な仕事であると考えられる。投与局所の発赤腫脹以外には主だった有害事象のないワクチンの治療薬としての有効性が証明できれば、抗がん剤治療に頼ってきたがん治療を変え、患者の生活の質（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。本研究により、質の高い臨床試験の遂行による科学的エビデンスの創出が実現し、小児がんにおけるがんペプチドワクチンの迅速な創薬化が加速し、がん患者のQOL・予後の改善、医療費の削減など保健医療への多大な貢献が期待される。

E. 結論

小児がんの中でも比較的对象も多く予後も不良な神経芽腫やユーイング肉腫、横紋筋肉腫、骨肉腫を対象に、それらががんを高発現している3種類の抗原（KOC1、FOX1、KIP20A）由来のがんペプチドカクテルワクチン療法の科学的エビデンスを創出することを目的として、GCPに準じた臨床試験体制の下で、薬事承認につなげるためのペプチドワクチン療法の第I相の医師主導治験を実施する。

F. 健康危険情報

なし

G. 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) 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.
- 3) Nakatsugawa M, Horie K, Yoshikawa T, Shimomura M, Kikuchi Y, Sakemura N, Suzuki S, Nobuoka D, Hirohashi Y, Torigoe T, Harada K, Takasu H, Sato N, Nakatsura T. Identification of an HLA-A *0201-restricted cytotoxic T lymphocyte epitope from the lung carcinoma antigen, Lentsin. *Int J Oncol.* 39(4):1041-1049, 2011.
- 4) Nobuoka D, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Kurohara 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.
- 5) Sawada Y, Yoshikawa T, Konishi M, 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.

- 6) 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.
 - 7) 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.
 - 8) 澤田雄、中面哲也、特集4 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、腫瘍内科 8(5):417-424, 2011.
 - 9) 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.
 - 10) 大喜多肇、瀧本哲也、中澤温子、藤本純一郎、原純一、小児固形腫瘍観察研究、小児外科 43(11):1238-1242, 2011.
 - 11) 原純一、瀧本哲也、大喜多肇、小児固形がん臨床試験共同機構、小児外科 43(11):1149-1153, 2011.
 - 12) 原純一、小児がん患者、家族からかかりつけ医への質問 小児がんはどのように治療されるのですか?、治療（患者・家族の相談に応えるがん診療サポートガイド）93巻4月増刊号:1171-1173, 2011.
 - 13) 前田貢作、米田光宏、亀井尚美、木下義晶、近藤知史、杉山正彦、菱木知郎、平山裕、水田耕一、脇坂宗親、本田昌平、佐藤智行、塚田真実、大植孝治、上松瀬新、田尻達郎、日本小児外科学会悪性腫瘍委員会、小児の外科的悪性腫瘍、2009年登録症例の全国集計結果の報告、日小外会誌 47(1):90-126, 2011.
- 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) ゼロ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日～7月1日
 - 4) 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
 - 5) 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
 - 6) 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
 - 7) Large scale expansion of Glypican-3 (GPC3) peptide specific Cytotoxic T Lymphocytes for adoptive immunotherapy. 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 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
 - 8) 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
 - 9) 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日～17日

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) 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

- 10) プロテオミクス解析による肝細胞がん細胞表面に高頻度に存在するペプチド同定、齊藤桂吾、信岡大輔、下村真菜美、吉川聡明、澤田雄、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
- 11) 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
- 12) 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
- 13) 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
- 14) 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
- 15) 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
- 16) 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
- 17) 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、齋田美江、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
- 18) 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
- 19) 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
- 20) 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
- 21) 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
- 22) 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、齋田美江、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日～2日
- 23) 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
- 24) 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日～2日

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

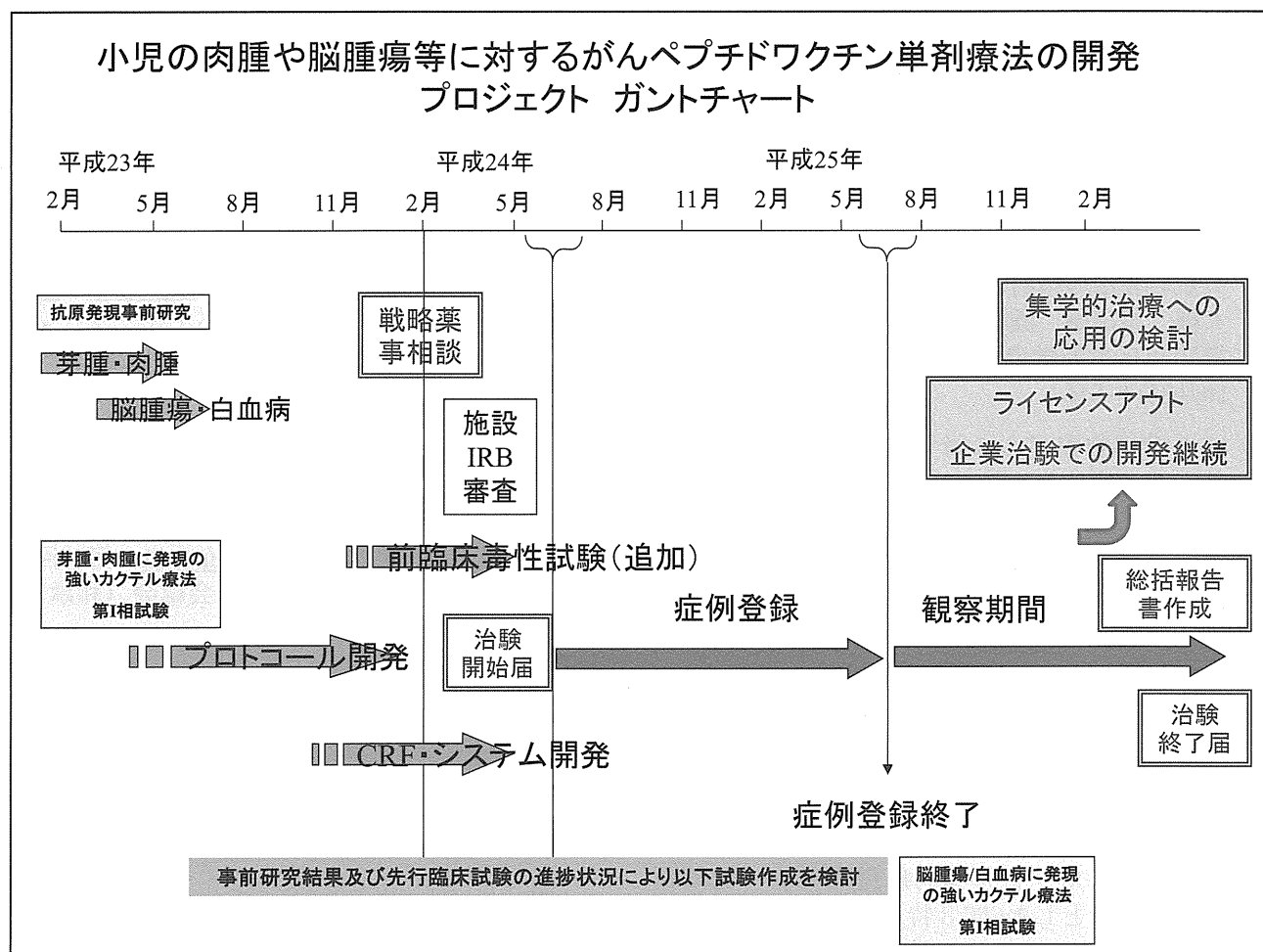
2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

研究の概要図



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
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	戸田剛太郎 ほか	消化器疾患の最新医療（先端医療シリーズ42）	先端医療技術研究所	東京	2011	164-167

雑 誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yoshikawa T, Nakatsugawa M, Suzuki S, Shirakawa H, Nobuoka D, Sakemura N, Motomura Y, Tanaka Y, Hayashi S, <u>Nakatsura T.</u>	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)	918-925	2011
Suzuki S, Yoshikawa T, Hirosawa T, Shibata K, Kikkawa F, Akatsuka Y, <u>Nakatsura T.</u>	Glypican-3 could be an effective target for immunotherapy combined with chemotherapy against ovarian clear cell carcinoma.	Cancer Sci.	102(9)	1622-1629	2011
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, <u>Nakatsura T.</u>	Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma induces glypican-3 peptide-specific cytotoxic T lymphocytes.	Int J Oncol.	40(1)	63-70	2012
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
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—	臨床雑誌「外科」	73(10)	1062-1068	2011

澤田雄、 <u>中面哲也</u>	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	腫瘍内科	8(5)	417-424	2011
大喜多肇、瀧本哲也、中澤温子、藤本純一郎、 <u>原純一</u>	小児固形腫瘍観察研究	小児外科	43(11)	1238-1242	2011
<u>原純一</u> 、瀧本哲也、大喜多肇	小児固形がん臨床試験共同機構	小児外科	43(11)	1149-1153	2011
<u>原純一</u>	小児がん患者、家族からかかりつけ医への質問 小児がんはどのように治療されるのですか?	治療(患者・家族の相談に応えるがん診療サポートガイド)	93巻4月増刊号	1171-1173	2011

IV. 研究成果の刊行物・別刷

4. ペプチドワクチン療法

4.1 はじめに

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がん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。免疫療法はがんの第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がん免疫療法の開発の必要がある。本稿では、特にペプチドワクチン療法についての現状について、我々の経験を中心に述べる。

4.2 がんの免疫療法について

がんの免疫療法の概念は既に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言える。

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。すなわち、がん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、がん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、様々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。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相臨床試験での有効性も報告されている。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。近い将来、ペプチドワクチンで

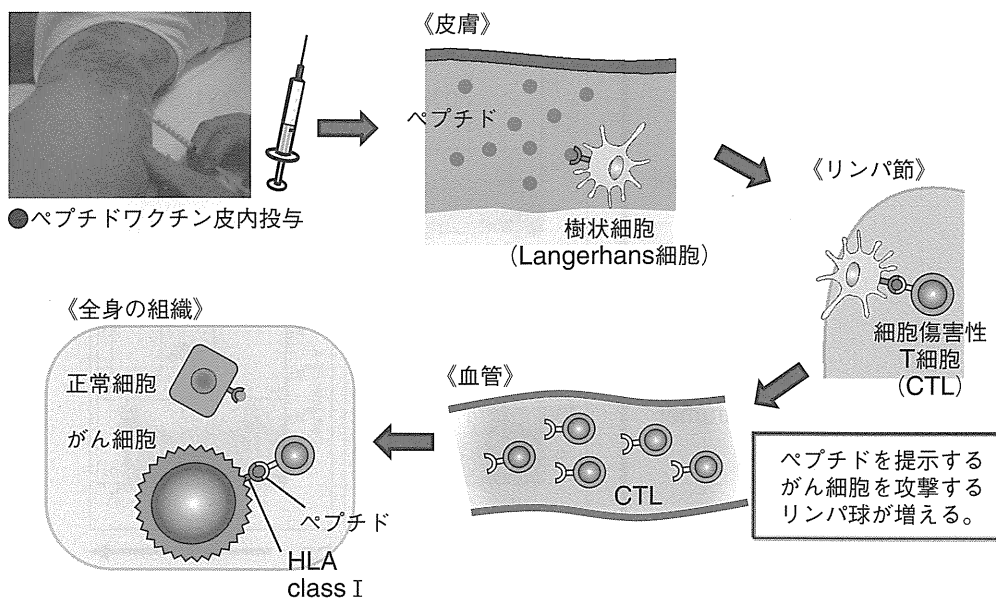


図1 ペプチドワクチン療法のメカニズムの概略

がんを予防する時代が来ることに期待したい。

4.2.1 ペプチドワクチン療法の proof of concept (POC)

ペプチドワクチン療法によりがん細胞を傷害するメカニズムを考えてみると、ペプチドをワクチンとして患者の皮内に注射すると、皮内のランゲルハンス細胞（樹状細胞）表面の HLA にペプチドが載り、その後リンパ節に移動して、リンパ節でペプチドを載せた樹状細胞によって刺激を受けたキラー T 細胞 (CTL) が活性化し、増え、血流に乗ってペプチドを HLA 表面に提示しているがん細胞を攻撃するが、ペプチドを提示していない正常細胞は傷害しないという目で見ることのできない複雑な生体反応である（図 1）。逆に言うと、ペプチドワクチンにより、血液中にペプチド特異的 CTL が増加して、その CTL が実際がんの組織の中に浸潤しない限りはがん細胞の傷害、すなわち臨床効果は起こりようがない。即ち、ペプチドワクチン投与後に血液中にペプチド特異的 CTL が増えるかど

うか、さらにその CTL が実際がんの組織の中に浸潤するかどうかを証明することこそが、本療法の “proof of concept (POC)” であり、それすら起こっていないならば臨床効果は起こるはずがない。

4.2.2 Glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチンの臨床第 I 相試験の概要

我々は進行肝細胞がん 33 例を対象に臨床第 I 相試験を実施した。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 IFA と混ぜたエマルジョン製剤を、安全性を確認しながら用量を増して投与した。

33 例中、注射時のその日のうちに消失する一過性の潮紅は 27 例 (82%) に認められ、うち 2 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 8 例で、うち 38℃ 以上が 4 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 33 例全例に見られ、うち 6 例には軽度の搔痒があり、クロタミトン（オイ

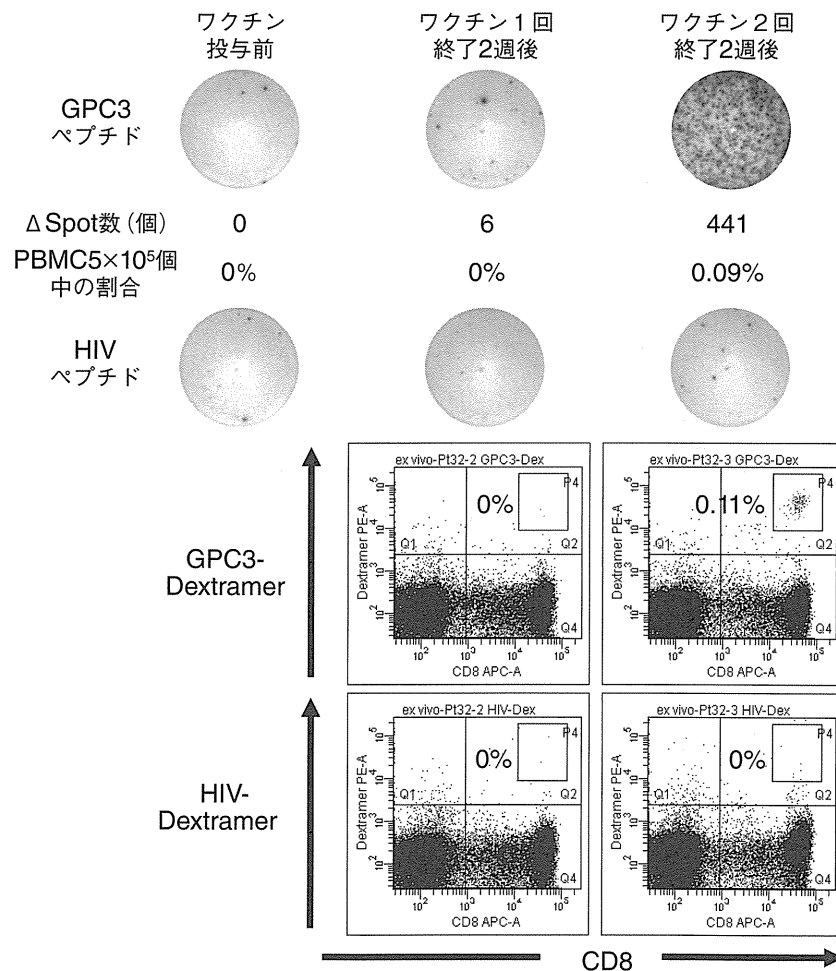


図 2 ペプチドワクチン投与前後の末梢血中ペプチド特異的 CTL の検出
わずか 2 回のペプチドワクチンで 10⁹ もの GPC3 ペプチド特異的 CTL が誘導された計算になる。

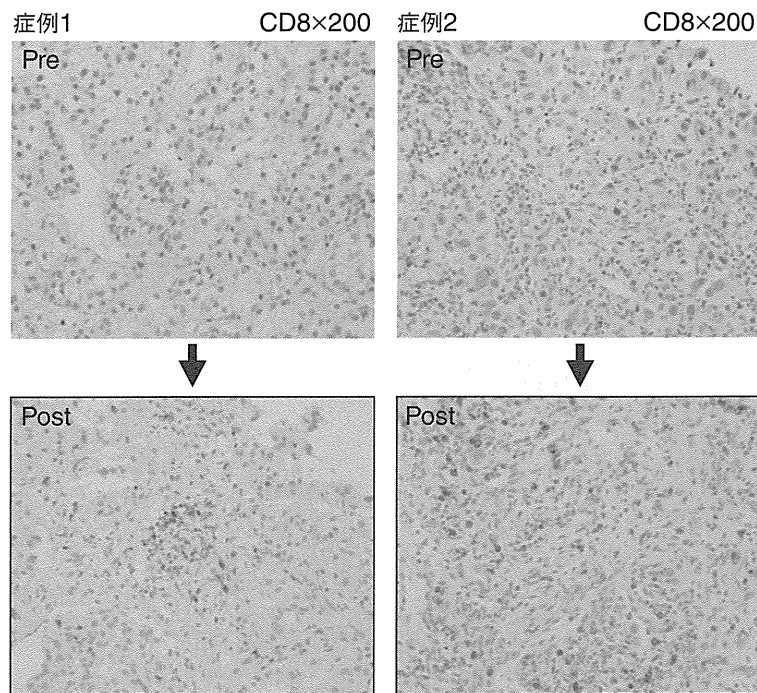


図3 ペプチドワクチン後の腫瘍内にCD8陽性のキラーT細胞が多数浸潤（口絵参照）

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。また、Grade 3の肝機能障害（AST、ALT、T-Bil）を4例に認めたが、いずれもがんの増悪によるものと判断された。以上、安全性においては問題ないと考えられた。

33例中30例（91%）に末梢血中ペプチド特異的CTLの頻度の増加が検出され（図2）、その頻度は投与量依存性に増加しており、免疫学的反応も確認された¹⁾。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3）。本ペプチドワクチン療法のPOCは得られたと考えている。

臨床効果については、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、33例中1例がPR、18例がSD（SD以上59.4%）で13例はPD、1例はNE（評価できず）であり、5例には腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小などの所見も認められた。TTP中央値は3.4ヵ月、全生存期間OS中央値は9ヵ月であった。

全33例のGPC3ペプチド特異的CTL活性とOSの分布図を検討すると、両者に有意な相関（ $p=0.031$ ）を認めた。さらにOS中央値では、GPC3ペプチド特異的CTL活性50以上群は12.2ヵ月、50未満群は8.4ヵ月と有意な差（ $p=0.033$ ）を認めた。GPC3ペプチド

特異的CTLの最大頻度50以上（ $N=15$ ）または50未満（ $N=18$ ）の2群に分けて検討したところ、臨床背景因子に関しては、2群間に有意差を認めるものはなく、GPC3ペプチド特異的T細胞の最大頻度50以上はOSに対する有意かつ独立した予後因子と考えられた。

4.2.3 日本国内の様々な施設からのがんに対するペプチドワクチンの有効例の報告

米国NCIのRosenberg SAらは、2004年のNature Medicineにがんワクチンの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²⁾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がんには劇的な効果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、また様々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、最近日本国内の様々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も散見され、今後が期待されている。概要を表1に示す。

4.3 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ペプチドワクチン等の免疫療法に