

201239006A

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)

肺癌に対するWT1ペプチド免疫療法の開発

(H23-実用化(がん)一般-006)

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 杉山 治夫

平成25(2013)年5月

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)

肺癌に対するWT1ペプチド免疫療法の開発
(H23-実用化(がん)-一般-006)

平成24年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 杉山 治夫

平成25(2013)年5月

目 次

I. 総括研究報告

肺癌に対するWT1ペプチド免疫療法の開発 杉山 治夫	-----	1
-------------------------------	-------	---

II. 分担研究報告

1. 肺癌に対するWT1ペプチド免疫療法の開発 奥村明之進	-----	15
2. 早期肺癌の予後不良因子に関する研究 坪井 正博	-----	17
3. 肺癌術後補助療法における選別因子に関する研究 池田 徳彦	-----	20
4. 肺癌におけるEML4-ALK融合遺伝子検査の合理的診断アルゴリズムの確立に 関する研究 鈴木 健司	-----	23
5. FDG-PET/CTを含む画像診断検査による肺癌の悪性度評価に関する観察研究-- 中山 治彦	-----	25
6. 肺癌に対するWT1ペプチド免疫療法の開発研究 多田 弘人	-----	27
7. 間質性肺炎を合併する原発性肺癌手術例の術後急性憎悪の予防および 治療法確立のための多施設調査研究 松村 晃秀	-----	31
8. 肺癌外科治療とその病態に関する研究 前田 元	-----	32
9. 肺癌に対する集学的治療に関する研究 吉村 雅裕	-----	36
10. WT1がんワクチンの肺がん治療に関する研究 山下 素弘	-----	38
11. 肺癌切除症例の予後を規定するバイオマーカーに関する研究 竹之山 光広	-----	40
12. 肺癌術後補助療法としてのWT1ペプチド免疫療法に関する研究 吉田 純司	-----	44
13. 肺癌の治療効果評価における三次元的CT体積測定法の有用性に 関する研究 富山 憲幸	-----	46
14. 肺癌に対する標準治療に関する研究 坂本 純一	-----	48
15. 肺癌術後補助療法としてのWT1ペプチド免疫療法の臨床統計解析 森田 智視	-----	49

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	53
---------------------	-------	----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	65
-----------------	-------	----

I. 総括研究報告

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発

研究代表者 杉山 治夫 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

肺癌は年々増加している難治がんであり、この肺癌の治癒率を向上させるためには、作用機序が大きく異なる免疫療法の開発が必須である。本医師主導治験の目的は肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の有用性を確立することである。本治験では、病理学的に完全切除が確認され、病理的病期 T2a-bNOMO 期非小細胞肺癌で、HLA-A*24:02 を有し、肺癌細胞における WT1 タンパクの発現が確認されている患者に対して、WT1 ペプチドワクチンを、1 週間毎に 5 回、次に 2 週間毎に 4 回、さらに 4 週間毎に 10 回、1 年間にわたって計 19 回投与する WT1 ペプチドワクチン群とプラセボ群に 2:1 にランダム割付を行なう。主たる解析として、2 年間無再発生存割合を群ごとに推定すると共に、群間差の両側 90%信頼区間を計算する。

研究分担者

奥村明之進	大阪大学 教授
坪井正博	横浜市立大学附属市民総合医療センター 准教授
池田徳彦	東京医科大学 主任教授
鈴木健司	順天堂大学 教授
中山治彦	神奈川県立がんセンター 部長
多田弘人	大阪市立総合医療センター 副院長
松村晃秀	近畿中央胸部疾患センター 副院長
前田元	刀根山病院 部長
吉村雅裕	兵庫県立がんセンター 部長
山下素弘	四国がんセンター 部長
竹之山光広	九州がんセンター 医長
吉田純司	国立がん研究センター東病院 外来医長
富山憲幸	大阪大学 教授
坂本純一	東海中央病院 院長
森田智視	横浜市立大学 教授

から切望されている。手術に加え、化学療法や放射線療法を併用し、既存の治療法の改良のみでは治療成績の飛躍的な向上は望みにくい。このような状況において、既存の治療法とはその作用機序の異なる免疫療法への期待が高まっている。近年免疫療法は、基礎免疫学の発展によってもたらされた科学的根拠にもとづいて構築できるようになったため、十分な臨床効果を期待しうるまでのレベルに到達してきた。免疫療法は、既存の治療法とはその殺細胞機序が異なり、他の治療法では不可能と考えられる静止期癌幹細胞を死滅させることができるので、免疫療法は、本来的には癌を完治させうるポテンシャルをもった治療法と考えられる。我々は、2001 年からトランスレーショナルリサーチとして、WT1 ペプチド免疫療法を 700 人以上の末期がん患者に実施し、本療法が、重篤な副作用を起こさず、末期癌に対して臨床効果を発揮しうる治療法であることを明らかにしてきた。これらの実績から、難治性の高い肺癌に対しても臨床効果が期待されるものと考え、本研究が立案、計画された。本研究は、難治がんの一つである肺癌の術後補助療法としての WT1 ペプチドワクチン療法の feasibility、有用性をランダム化第 I/II 相試験で評価するとともに、臨床第 III 相試験（治験）の実施可能性を検討することを目的とする。本研究は、厚生労働省の「健康長寿社会実現のためのライフ・イノベーションプロジェクト」の施策に合致するとともに、医師主導治験を経て、日本発の肺癌に対する WT1 ペプチドワクチンの製薬化につながる考えられ、厚生労働行政に大きく貢献するものと考えられる。

A. 研究目的

肺癌は、年々増加の一途をたどっており、手術適用にならない患者も多くみられ、手術が施行された患者においても、手術後、多くの患者が再発し、死に至る代表的な難治癌であり、肺癌の治療成績の向上が国民

B. 研究方法

（倫理面への配慮）

参加患者の安全性確保については、適格条件やプロトコル治療の中止変更規準を厳しく設けており、試験参加による不利益は最小化される。また、「臨床研究に関する倫理指針」、「医薬品の臨床試験の実施の基準（省令GCP）」およびヘルシンキ宣言などの国際的倫理原則に従い以下を遵守する。

- 1) 研究実施計画書の IRB 承認が得られた施設のみから患者登録を行う。
- 2) すべての患者について登録前に十分な説明と理解に基づく自発的同意を本人より文書で得る。
- 3) データの取り扱い上、患者氏名等直接個人が識別できる情報を用いず、かつデータベースのセキュリティを確保し、個人情報（プライバシー）保護を厳守する。

【研究形式】盲検的ランダム化第 I・II 相臨床試験。

主評価項目は、第 I 相は有害事象発生割合（安全性）、第 II 相で2年無再発生存割合

副次的評価項目は、1年無再発生存割合、無再発生存期間、全生存期間、有害事象発生割合、

【対象症例】患者選択規準のうち主なものは、次の通り。1) 脈管侵襲を伴う病理病期 IA 期および IB/II 期非小細胞肺癌、2) 病理学的に完全切除が確認されている、3) 年齢：20 歳以上、4) Performance status (ECOG) 0~1、5) 術後補助療法が未施行 6) HLA-A*24:02 を有する、7) 肺癌細胞における WT1 の発現、8) 主要臓器機能の保持、9) 患者本人からの文書による参加同意

【症例登録とランダム割付】

症例登録はデータセンターでの中央登録方式とする。第 II 相部ではデータセンターで、「A 群: WT1 ペプチドワクチン群」と「B 群: プラセボ群」に 2:1 でランダムに割付けられる。ランダム割付に際し、1) 性別（男/女）、2) 年齢（70 歳未満/70 歳以上）、3) 病理病期（IA・IB 期/II 期）、4) 施設で大きな偏りが生じないように、これらを割付調整因子とする最小化法を用いる。

【治療内容】

WT1 ペプチドワクチンは、HLA-A*24:02 用 WT1 ペプチドワクチ

ン (WT4869) である。1 回につき 3mg または 6mg / body を、両上腕伸側～腋窩に皮下注射する。3mg の場合は 1 カ所、6mg の場合は 2 ヶ所投与行う。プラセボ群で用いる製剤は、WT1 ペプチドを含まないペプチド溶解液とアジュバントとのエマルジョン製剤である。

治療開始日を Day1 とし、Day365 まで合計 19 回の投与を行う。Day29 まで週 1 回投与。その後、Day 85 まで 2 週毎に投与を行い、以後、Day 365 まで 4 週毎に投与する。

第 I 相部で WT1 ペプチド 3mg を 6 例、6mg を 6 例に投与を行い忍容性ならびに WT1 特異的免疫反応の誘導効率により推奨投与量を決定する。

第 II 相部では第 I 相で決定した WT1 ペプチドの推奨投与量を用いて登録後割付けられた治療を開始する。治療法は、「A 群: WT1 ペプチドワクチン群」と「B 群: プラセボ対象群」の 2 群でいずれも治療期間は 1 年間とする。プロトコル治療完了後、再発を認めるまで無治療で観察する。プロトコル治療中止後の治療、および再発後の後治療は規定しないが、試験薬である WT1 ペプチドワクチンの再投与は認めない。

【集積目標症例数】

対象とする症例において、術後補助療法なしで経過観察した場合の 2 年無再発生存割合は 65% と見込まれ、これを A 群の閾値 2 年無再発生存割合と設定する。これに対し臨床的に有用な再発予防効果をハザード比で 0.75 と仮定したとき、期待 2 年無再発生存割合は 72% となる。 α エラー = (片側) 0.05、検出力 = 80% のもと、登録期間 2 年、追跡期間 2 年で必要症例数を計算すると、試験治療群での最小必要症例数は 140 例と計算される。A 群と B 群との割付比を 2:1 にしたとき、試験全体での必要症例数は 210 例となる (B 群は 70 例)。不適格例などを考慮して試験全体の目標登録数を 225 例 [A 群: WT1 ペプチドワクチン群 150 例、B 群: プラセボ対象群 75 例] と設定した。

なお、症例集積期間 2 年、最小追跡観察期間 2 年を予定する。

【実施施設・症例集積見込み】

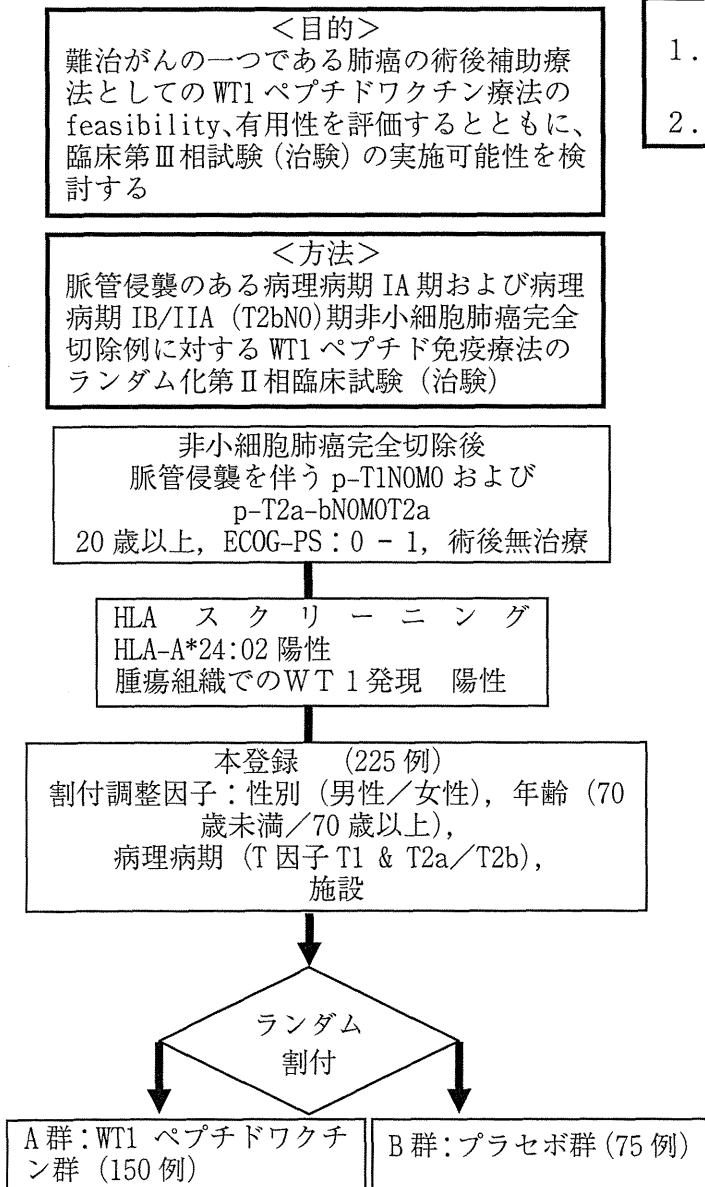
本臨床研究参加 12 施設における脈管侵襲を伴う術後 (病理) 病期 IA 期および IB /II 期の年間切除症例数は、約 880 例程度あり、このうち、重複癌などの

不適格例を除くと60%(約530例)が登録可能と考えられる。同意取得率は60%程度と考えられる。控えめに見積もって適格例55%、うち同意取得率55%とする
 と年間270例弱の集積可能となり、2年集積で約225例の患者登録は可能と判断する。

【研究実施体制】

臨床試験実施計画書は、研究代表者、研究事務局、統計解析責任者、臨床研究アドバイザー等の合議で作成し、実施に当たって各施設の倫理委員会またはIRBの承認を得る。症例集積は試験分担医師がそれぞれの施設から行う。研究登録、モニタリング等は、外部CRO（EPS社、ACメディカル社、ファイブ

第 I I 相試験の流れ図

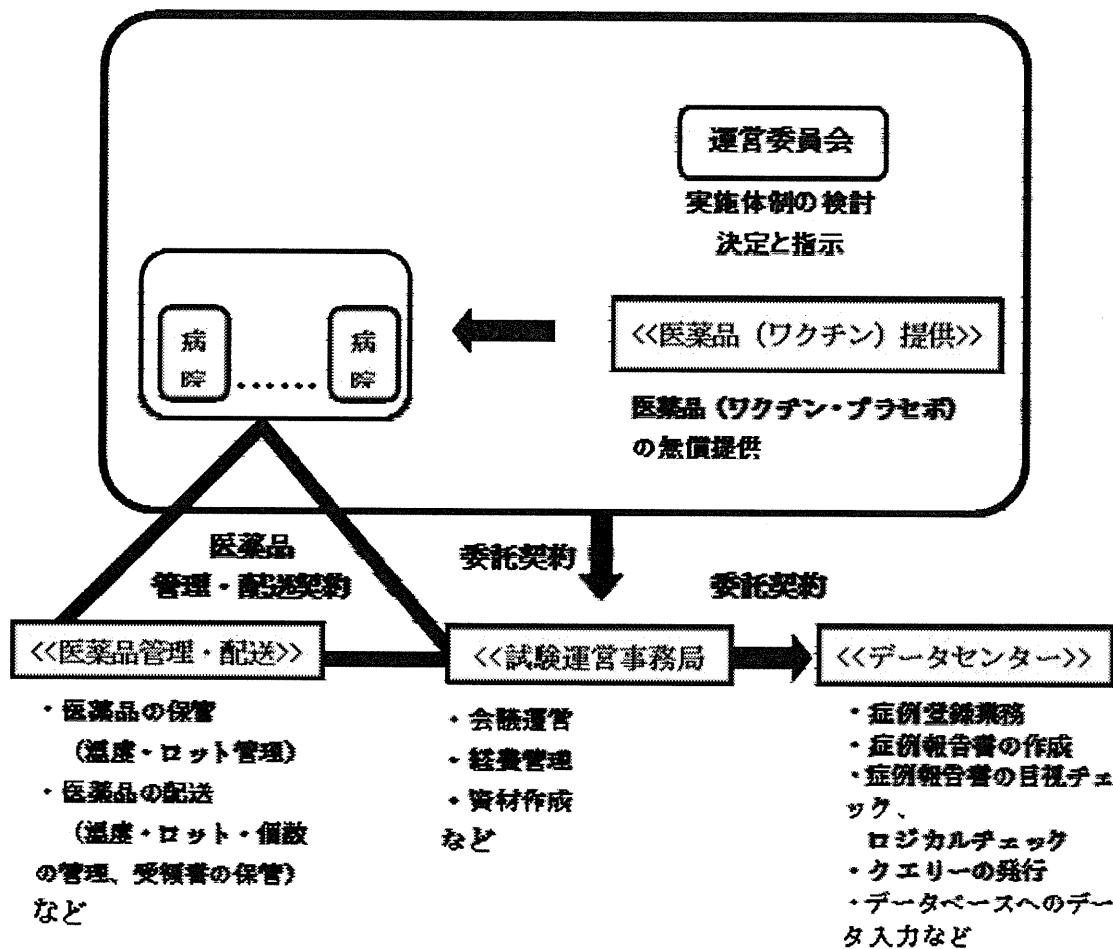


リングス社）に依頼し、研究事務局がその状況を把握し、安全な研究の遂行に努める。予期せぬまたは重篤な有害事象については、第三者機関である効果安全評価委員会で審査される。再発確認の画像は画像中央判定委員会で中央判定する。統計解析に関しては統計解析責任者のもとで実施する。研究代表者が総括を行う。

A 群、B 群共に治療開始日を Day1 とする。
 Day365 まで 1 年間投与。
 合計 19 回、投与する。
 ・ Day29 まで週 1 回の投与
 ・ Day 85 まで 2 週毎に投与
 ・ Day 365 まで 4 週毎に投与

<期待される効果>
 1. WT1 ペプチド免疫療法により術後肺癌の再発予防効果が得られる。
 2. 第Ⅲ相臨床治験への基盤の確立

試験実施体制



C. 研究結果

I. 治験のための標準作業手順書（SOP）の作製

1. 免疫組織化学法による WT1 タンパクの発現判定のための標準作業手順の作製

大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座免疫造血制御研究室にて WT1 免疫染色を行う。同施設ではこれまでに WT1 ペプチドワクチンによる固形癌に対する免疫療法の臨床試験において 1700 例以上の WT1 タンパク発現判定を行ってきた実績を有する。検査のバリデーションは内部精度管理による。さらに、現在、同施設で施行される染色・判定法をもとにして WT1 タンパク免疫染色の国際標準化プロジェクトが進行中である。H23 年度は治験に対応するため標準作業手順書（SOP）を作成した。WT1 発現判定にあたっては判定の客観性を担保するために施設外部の病理医による判定を行う。

（1）検体の受け入れ

WT1 治験事務局（大阪大学大学院医学系研究科癌ワクチン療法学寄附講座内）にて行う。染色依頼者は WT1 治験へのエントリーを希望する患者の組織検体（免疫染色用コート付ガラススライドを用いて作成した薄切未染標本 5 枚またはパラフィンブロック）を WT1 治験事務局に検体情報（患者氏名または ID、年齢、性別、病名、病理診断名、標本臓器、担当医氏名、担当医連絡先、検体受け入れ日、等）を添付して提出する。

WT1 治験事務局で受け入れた標本については匿名化を目的に WT1 発現判定用の番号の割付を行い（例 P12-001）、標本スライドのすべてにその割付番号を記載し、標本箱に入れ暗所（室温）で染色施設への搬送（原則として週に 1 回）まで保管する。検体情報は割付番号ごとに電子ファイル（以下「WT1 発現判定ファイル」と呼ぶ）に記入する。なお、WT1 発現判定ファイルは個人情報保護のため、パスワードを設定し、限定されたアクセス権者のみが閲覧可能とする。また、この WT1 発現判定ファイルは大阪大学医学系研究科内でのみ閲覧可能とする。また、検体情報をもとに判定依頼票を作成する。

（2）搬送方法

WT1 治験事務局から染色・判定施設（大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座免疫造血制御研究室）まで、標本スライ

ドに判定依頼票を添えて担当者が搬送する。搬送は常温で行う。

（3）WT1 タンパク免疫染色

WT1 タンパク免疫染色は、大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座免疫造血制御研究室で行う。

①染色手順

染色は原則として週に 1 回行う。

染色の精度を保つため、原則として 1 度の染色では 10 検体（HE、C-19 染色、6F-H2 染色のセットで 1 検体）を超えては行わないこととする。

染色担当者は判定依頼票と標本スライドが一致していることを確認する。

②薄切

滑走式マイクロトーム（大和光機）により 3 μ m の厚さで薄切し、薄切切片を水面に浮かべる。その後、50℃の温水に浮かべ、MAS コート付きスライドガラス（マツマミ、S9442）に貼り付け、50℃に設定したパラフィン伸展器（ミナトメディカル、PO-2）により一晩乾燥させる。

③染色方法

HE 染色後、WT1 モノクローナル抗体 C19（Santa Cruz）と 6F-H（Daka）で染色する。

（4）WT1 免疫染色の記録と保管

WT1 タンパク免疫染色については、染色者、染色日時、判定番号、使用抗体について記録、保管する。染色済み標本（もしくは nanozoomer（Hamamatsu）を用いて取得した標本のスキャンファイル）は 1 年間以上保管する。

（5）WT1 タンパク免疫染色の判定方法

まず陽性コントロール標本であるマウス腎臓の podocyte が染色されていることを確認する。次に、染色標本を観察し、組織内で WT1 タンパクの発現が陰性であると考えられる間質の fibroblast やリンパ球における WT1 タンパクの染色の強度によって染色標本のバックグラウンドの評価を行う。バックグラウンドが強い場合にはその標本による WT1 タンパク発現判定は行わない。上記の評価の終了後、腫瘍細胞における WT1 タンパク発現の評価を行う。6F-H2 抗体あるいは C-19 抗体で染色した標本のそれぞれについて、腫瘍細胞と間質との間の染色のコントラストに基づいて腫瘍細胞における WT1 タンパク発現を、陰性、弱陽性、陽性、あるいは、強陽性と、判定する。また、

腫瘍血管内皮細胞における WT1 タンパク発現の評価も行う。6F-H2 抗体あるいは C-19 抗体で染色した標本のそれぞれについて、腫瘍細胞と間質との間の染色のコントラストに基づいて血管内皮細胞における WT1 タンパク発現を陰性、弱陽性、陽性、あるいは、強陽性と判定する。多くの場合、陽性である。

上記の判定に当たっては客観性を保つため、大阪大学大学院医学系研究科機能診断科学講座免疫造血制御研究室以外の外部の病理医の判定を受ける。

（6）精度管理

染色ごと、抗体ごとにコントロール標本を検体標本と共に染色し、WT1 発現判のための免疫組織化学染色方法の内部精度管理を行う。コントロール標本には C57BL6 (SLC) マウス腎臓を用いる。マウス腎臓の podocyte を陽性コントロールに、fibroblast を陰性コントロールとする。

（7）判定結果の報告

染色・判定施設の担当者は、判定結果を WT1 治験事務局へ e-mail にて送付する。WT1 治験事務局は、この判定結果を書面または e-mail にて染色依頼者に対して報告するとともに、判定結果、報告日を「WT1 発現判定ファイル」に記載し、保管する。

2. 治験薬供給についての標準作業手順の作成

当初大阪大学で治験薬調整と配送を予定していたため以下の準備を行った。

（1）機械法による薬剤調剤法の確立

治験薬である、WT1 ペプチドワクチンについては WT1 ペプチドおよびアジュバントのエマルションとして実用に供される。このエマルション化の品質が臨床効果に影響しうることがこれまでに明らかになっている。そこで本治験においては、大阪大学医学部附属病院薬剤部において一括調剤し、これを治験実施施設に供給する。その際、エマルションの品質を安定に管理することおよび 1 日当たり数十におよぶ治験薬の調剤数に対応するため機械法による調整法を確立した。さらに、大阪大学医学部附属病院薬剤部調剤にスペースを設け、クリーンベンチを新たに設置するとともに、薬剤調剤のための専属要員を置く。この要員の研修は終了している。

大阪大学医学部附属病院薬剤部において（攪拌脱泡混練/粉碎機 NP-100 シンキー社）を用いたワクチン調剤法（以下機械法）

の開発を行った。

① 機械法で調整した WT1 ペプチドワクチンの薬効

これまで大阪大学医学部附属病院薬剤部において行ってきた用手法で調剤した WT1 ペプチドワクチンに対して、機械法で調剤した WT1 ペプチドワクチンの非劣性を、マウスを用いた動物実験により検討した。その結果、機械法で調剤した WT1 ペプチドワクチンは、用手法で調剤した WT1 ペプチドワクチンに比較して同等以上の抗腫瘍効果を示し、用手法で調剤した WT1 ペプチドワクチンに対して、機械法で調剤した WT1 ペプチドワクチンの非劣性が明らかになった。

② 機械法で調整した WT1 ペプチドワクチンの安定性

調剤後の安定性について用手法で調剤した WT1 ペプチドワクチンと機械法で調剤した WT1 ワクチンを比較したところ、4℃保存で、用手法で調剤した WT1 ワクチンでは、エマルション調製 3 日後にエマルションの分離を認めたが、機械法で調剤した WT1 ワクチンではエマルション調製後 7 日後までエマルションの分離を認めなかった。このように、安定性は、機械法で調剤した WT1 ワクチンは、用手法で調剤した WT1 ワクチンに比較して優れていることが明らかになった。

（2）調剤の管理と調剤後安定性の管理

高い精度による WT1 ペプチドワクチン調剤の品質管理を行うため、位相差顕微鏡観察および粒子径・ゼータ電位・分子量測定装置（ゼータサイザー Nano ZS）を用いた粒度測定による品質管理体制を整えた。

（3）配送体制の確立

調剤された WT1 ワクチンの配送にあたっては、下記の条件を必須とした。

- ① 治験薬を配送するにあたって規制に合致していること。
- ② 配送時の調剤の品質を担保するため温度管理が適切になされること。
- ③ 配送時の安全を担保するため調剤された WT1 ペプチドワクチンの密封性が保たれること。

その後、PMDA 及び製薬企業との協議の結果、開発中の WT1 ペプチドワクチン製剤 (WT4869) を提供されることになった。

提供された WT4869 の保管ならびに試験参加施設への配送手続きについてはファイ

プリングス社に委託した。

ファイプリングス社から試験参加施設への治験薬配送について宅急便配送業者および治験薬配送業者に面談を行なった。その結果、宅急便での配送は、規制に合致し、配送時の温度管理も十分であることが判明した。業者としては、信頼度の高い日本通運に依頼した。

宅急便配送時の温度管理については業者にて保証されるが、さらに配送時の温度管理を徹底するために温度ロガーをボックスごとに備え、温度記録を行うこととした。

II. 肺癌術後補助療法として WT1 ペプチドワクチンの適応に関する研究

1. 上皮細胞が極性を失って運動性が亢進し間葉系の形質を獲得する上皮間葉転換 EMT に注目し、EMT と腫瘍悪性度の関連を解析した。WT1 ペプチドなどの癌ワクチンに対して EMT がその効果に関与する可能性があり、EMT メカニズムを追求・制御することで、癌ワクチンの効果を高めることが期待できる。

2. 臓側胸膜浸潤 (VPI) の程度ではなく、VPI の存在そのものが腫瘍径 3cm 以下かつ n0-1 NSCLC 症例の術後再発における予後不良因子である。これらの症例群では、VPI を認めた場合は肺癌取り扱い規約第 7 版と同様に、次の p-stage への up-stage を考慮すべきである。胸膜浸潤は、病理病期 IA 期でも高再発予後因子であり、また胸膜浸潤陽性 IA 期 NSCLC は、IB 期と同等に再発しやすい。今後、3cm 以下の腫瘍径であっても胸膜浸潤陽性 I 期の非小細胞肺癌には WT1 ペプチドワクチンなどによる術後補助療法の介入、確立が期待される。

3. 完全切除された病理病期 IA 非小細胞肺癌を対象として病理組織学的検討を行い、再発予測因子を抽出した。多変量解析では脈管浸潤陽性、低分化癌が独立した再発予測因子であることがわかり、これらの因子を有する症例は有意に遠隔再発が多かった。早期肺癌において脈管浸潤と分化度は、腫瘍径を超える予後への影響があるため、これらの因子を有する症例に対する WT1 ペプチドワクチンを含め、効果的な術後補助化学療法への導入は早期肺癌の予後改善に重要であると考えられた。

4. EML4-ALK 融合遺伝子は非小細胞肺癌の

2-5%、肺腺癌の 4-5% に認められる遺伝子異常で、非喫煙者、若年者、女性に多い傾向がある。EML4-ALK 融合遺伝子は EGFR 変異陰性/KRAS 変異陰性/腺癌の組み合わせで検出率が上がる。IHC でスクリーニング後、FISH か RT-PCR で確認する方法が簡便であると考えられた。

5. 肺野条件 CT での充実部分の最大径と原発巣の SUVmax はともに臨床病期 I 期腺癌のリンパ節転移を予測する有意な測因子であった。充実部分の最大径が 0.8 cm 未満または原発巣の SUVmax が 1.5 未満であれば系統的なリンパ節郭清は不要である。

6. 本邦で病期 IB に対して標準とされている UFT を、全病期を対象に標準治療に選定した。試験治療として Gemcitabine を採用して投与したが、両群間に有意差は認められなかった。切除後の成績は非常に良好であったため、差がつかなかったものと思われた。

7. 国立病院機構肺がん研究会のデータベースを用いて、肺線維症合併肺癌の術後急性増悪の頻度、術後早期死亡、予防策の有用性について検討した。肺線維症合併肺癌症例は術後早期死亡の割合が高く、急性増悪の発症頻度は 17% で、急性増悪を発症した症例の 38% は死亡した。急性増悪発症予防策で有用性の認められたものはなかった。

8. 肺癌の中で、特に悪性度が高いと考えられる多形癌と神経内分泌腫瘍について、免疫組織学的に検索を行い、その生物学的特徴の一部を明らかにした。予後不良である理由として、接着分子の消失、種々の MMP の発現、CSC の存在、EMT が関連していることが示唆された。

9. Psf3 が肺腺癌の予後予測因子となりうる可能性が示唆された。また I 期症例群においても予後不良が示されたことから術後補助療法の候補を選択するためのバイオマーカーとなる可能性も示された。

10. 肺がんの治療における診療状況を明らかにし、がんワクチン治療時の対照群としての診療状況を明らかにし、標準化の可能性を検討する。施設内での状況および再発状況、予後を診療録から後ろ向きに検討し、さらに他施設のアンケート調査も行い検討した。肺癌術後再発の多くは 3 年以内の再発であった。経過観察方法では施設間

及び各担当医師間でも多様性に富むことが明らかになった。

1.1. 病理病期 I 期腺癌切除例、256 症例の遺伝子変異 (*EGFR*, *K-ras*, *ALK*) の解析を行い、*K-ras* 変異は再発の予後予測因子であり、*EGFR* 変異は再発後の *EGFR*-TKI に対する治療効果予測因子であることを明らかにした。さらに、*BRAF* 遺伝子変異も追加解析し、結果を 2012 年の ESMO で発表した。WT1 がんワクチン術後補助療法のデザインのなかの割り付け因子の設定根拠に有用と考えられる。

1.2. 従来の TNM 分類では、組織型、組織亜型、組織分化度、血管浸潤、繊維化間質などの影響も勘案して T 因子を定義すべきである。WT1 ワクチンなどの術後補助療法の適応もこれらの因子を総合して検討される必要がある。

1.3. 肺腫瘍は周囲を CT 濃度が大きく異なる肺組織に囲まれているため、腫瘍の抽出（セグメンテーション）が容易であり、コンピュータ支援画像診断プログラムを用いることにより三次元的に体積を測定することができる。三次元的体積測定は、コンピュータを用いるため、測定者間の誤差が少なく、客観的に腫瘍全体の体積を測定できるため、腫瘍縮小効果の判定に大きく寄与できることが予想される。本研究では、非小細胞肺癌の治療効果判定に三次元的体積測定を応用し、RECIST と対比しながら、その有用性を検証する。この手法を確立し、WT1 がんワクチンによる肺癌の治療効果判定に応用する。

1.4. 肺癌に対する WT1 ペプチドワクチンの開発にあたり、臨床統計解析の果たす役割について検討した。ランダム化第 II 相試験の試験デザインについては、第 II 相試験は、前の第 I 相試験を受けて実施され、次の第 III 相試験につなげると言う点で非常に重要な位置にあり、今後、第 III 相試験の成功率を高めるためのより優れた試験デザインの開発が望まれる。

III. 本研究課題の採択から、現在までの経過

平成 23 年 10 月 6 日 本研究課題が採択される。12 月 20 日（独）医薬品医療機器総合機構 (PDMA) との対面助言に向けた事前面談。平成 24 年 1 月 24 日 二度目の PMDA との事前面談。GCP に準拠した医師主導治験を実

施するよう指示を受ける。6 月 1 日 PMDA の対面助言の申込。8 月 9 日 PMDA 対面助言。本医師主導治験が承認される。治験実施申請書(表1)及び SOP・手順書(表2)の作成。12 月 3 日 大阪大学医学部付属病院 IRB 承認。12 月 18 日 大阪大学医学部付属病院 PMDA に治験計画書を届け出。12 月 26 日 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センター IRB 申請。平成 25 年 1 月 11 日 IRB 承認。1 月 30 日 国立病院機構 近畿中央胸部疾患センターを追加した治験計画変更届書の PMDA への届け出。1 月 23 日 大阪府立成人病センター IRB 申請。3 月 4 日 IRB 承認。3 月 25 日 大阪府立成人病センターを追加した治験計画変更届書の PMDA への届け出。5 月 14 日現在 一次同意患者 8 名。2 次同意患者 1 名で 6 月 3 日より 1 例目が開始予定となっている。

D. 考察

数々の手続きを踏む必要があったため、治験の実施までに長時間を要したが、6 月 3 日から 1 例目の治験を開始することができるようになった。今後は、早急に第 I 相部分の治験を終了し、第 II 相部分に治験に進みたい。

E. 結論

WT1 ペプチドワクチンの医師主導治験に必要な膨大な準備が整い、近似か、医師主導治験を開始することができるようになった。

F. 健康危険情報（研究代表者のみ） 特記すべきことなし

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Tachino S, Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Morimoto S, Lin Y, Tamanaka T, Kondo K, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity. *Cancer Immunol Immunother*, in press.

2. Anguille S, Fujiki F, Smits EL, Oji Y, Lion E, Oka Y, Berneman ZN, Sugiyama H. Identification of a Wilms' tumor 1-derived immunogenic CD4(+) T-cell epitope that is recognized in the context of common Caucasian HLA-DR haplotypes. *Leukemia*, 27:748-750 2013.
3. Lin Y, Fujiki F, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tani S, Nakajima H, Tatsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. HLA - DPB1 * 05:01 - restricted WT1 332 - specific TCR - transduced CD4(+) T lymphocytes display a helper activity for WT1-specific CTL induction and a cytotoxicity against leukemia cells. *J Immunother*, 36:159-170, 2013.
4. Miyatake T, Ueda Y, Morimoto A, Enomoto T, Oka Y, Nishida S, Tsuboi A, Shirakata T, Oji Y, Hosen N, Aozasa K, Morita S, Sakamoto J, Sugiyama H, Kimura T. WT1 Peptide Immunotherapy for Gynecologic Malignancies Resistant to Conventional Therapies : a Phase II trial. *J Cancer Res Clin Oncol*, 139: 457-463, 2013.
5. Morimoto S, Oka Y, Tsuboi A, Tanaka Y, Fujiki F, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Maruno M, Myoui A, Enomoto T, Izumoto S, Sekimoto M, Kagawa N, Hashimoto N, Yoshimine T, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Biased usage of T cell receptor β -chain variable region genes of Wilms' tumor gene (WT1)-specific CD8(+) T cells in patients with solid tumors and healthy donors. *Cancer Sci*. 103: 408-414, 2012.
6. Nakajima H, Oka Y, Tsuboi A, Tatsumi N, Yamamoto Y, Fujiki F, Lie Z, Murao A, Morimoto S, Hosen N, Shirakata T, Nishida S, Kawase I, Isaka Y, Oji Y, Sugiyama H. Enhanced tumor immunity of WT1 peptide vaccination by interferon- β administration. *Vaccine*, 30: 722-9. 2012.
7. Chiba Y, Kinoshita M, Okita Y, Tsuboi A, Isohashi K, Kagawa N, Fujimoto Y, Oji Y, Oka Y, Shimosegawa E, Morita S, Hatazawa J, Sugiyama H, Hashimoto N, Yoshimine T. Use of (11) C - methionine PET parametric response map for monitoring WT1 immunotherapy response in recurrent malignant glioma. *J Neurosurg*, 116: 835-42. 2012.
8. Shirakata T, Oka Y, Nishida S, Hosen N, Tsuboi A, Oji Y, Murao A, Tanaka H, Nakatsuka S, Inohara H, Sugiyama H. WT1 Peptide Therapy for a Patient with Chemotherapy-resistant Salivary Gland Cancer. *Anticancer Res*. 32: 1081-6, 2012.
9. Hosen N, Matsuoka Y, Kishida S, Nakata J, Mizutani Y, Hasegawa K, Mugitani A, Ichihara H, Aoyama Y, Nishida S, Tsuboi A, Fujiki F, Tatsumi N, Nakajima H, Hino M, Kimura T, Yata K, Abe M, Oka Y, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. CD 138 - negative clonogenic cells are plasma cells but not B cells in some multiple myeloma patients. *Leukemia*, 26: 2135-41, 2012
10. Wada N, Zaki MA, Kohara M, Ogawa H, Sugiyama H, Nomura S, Matsumura I, Hino M, Kanakura Y, Inagaki H, Morii E, Aozasa K. Diffuse large B cell lymphoma with an interfollicular pattern of proliferation shows a favourable prognosis: a study of the Osaka Lymphoma Study Group. *Histopathology*, 60: 924-932, 2012.
11. Ohno S, Okuyama R, Aruga A, Sugiyama H, Yamamoto M. Phase I Trial of Wilms' Tumor 1 (WT1) Peptide Vaccine with GM-CSF or CpG in Patients with Solid Malignancy. *Anticancer Res*, 32: 2263-9, 2012.

12. Nishioka M, Tanemura A, Nishida S, Nakano A, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Azuma I, Sugiyama H, Katayama I. Vaccination with WT-1 (Wilms' Tumor gene-1) peptide and BCG-CWS in melanoma. *Eur J Dermatol.* 22: 258-9, 2012.
13. Tamanaka T, Oka Y, Fujiki F, Tsuboi A, Katsuhara A, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Lin Y, Tachino S, Akatsuka Y, Kuzushima K, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Recognition of a natural WT1 epitope by a modified WT1 peptide-specific T cell receptor. *Anticancer Res.* 32:5201-5209 2012.
7. 西田純幸、中田潤、中江吉希、中島博子、藤木文博、辰巳直也、杉山治夫：慢性期CMLに対するイマチニブ併用WT1ペプチドワクチン免疫療法，第4回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会，石川，2012年8月18日
8. 保仙直毅、前田哲生、福島健太郎、近藤忠一、日野雅之、岡芳弘、熊ノ郷敦、金倉謙、杉山治夫：再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対するWT1ペプチドワクチン第1相臨床試験，第4回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会，石川，2012年8月18日

学会発表

1. 杉山治夫：WT1ペプチドがん免疫療法，第10回日本臨床腫瘍学会学術総会，大阪，2012年7月26日
2. 中島博子、岡芳弘、坪井昭博、杉山治夫：WT1ペプチドワクチン効果増強を求めて-マウスモデルを基にした検討-，第16回日本がん免疫学会総会，北海道，2012年7月26日
3. 坪井昭博、橋本直哉、香川尚己、千葉泰良、岡芳弘、尾路祐介、保仙直毅、西田純幸、吉峰俊樹、杉山治夫：初発悪性神経膠腫を対象としたテモゾロミド併用WT1ペプチドワクチン第I相臨床試験，第16回日本がん免疫学会総会，北海道，2012年7月28日
4. 橋井佳子、坪井昭博、西田純幸、尾路祐介、岡芳弘、杉山治夫：WT1ペプチドワクチンを用いた小児固形がんに対する免疫療法，第16回日本がん免疫学会総会，北海道，2012年7月28日
5. 保仙直毅、前田哲夫、福島健太郎、近藤忠一、日野雅之、岡芳弘、熊ノ郷淳、金倉謙、杉山治夫：再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対するWT1ペプチドワクチン第1相臨床試験，第16回日本がん免疫学会総会，北海道，2012年7月28日
6. 尾路祐介、岡芳弘、坪井昭博、保仙直毅、
9. 中島博子、岡芳弘、坪井昭博、藤木文博、辰巳直也、尾路祐介、杉山治夫：WT1ヘルパーペプチド投与による抗腫瘍免疫反応の増強-マウスモデルを用いた検討-，第4回造血器腫瘍免疫療法研究会学術集会，石川，2012年8月18日
10. 坪井昭博、橋本直哉、岡芳弘、香川尚己、木下学、木嶋教行、千葉泰良、尾路祐介、保仙直毅、西田純幸、吉峰俊樹、杉山治夫：初発悪性神経膠腫を対象としたテモゾロミド併用WT1ペプチドワクチン第I相臨床試験，第71回日本癌学会学術総会，北海道，2012年9月19日
11. 森本晶子、上田豊、宮武崇、榎本隆之、岡芳弘、西田純幸、坪井昭博、白方俊章、尾路祐介、森田智視、坂本純一、杉山治夫、木村正：治療抵抗性婦人科悪性腫瘍におけるWT1ペプチドワクチン第II相臨床試験，第71回日本癌学会学術総会，北海道，2012年9月19日
12. 矢津田旬二、入江厚、道端弥生、原田久美子、富田雄介、湯野晃、竹田直樹、澁谷功、十河真司、藤木文博、杉山治夫、江藤正俊、西村泰治：CD4+T細胞が認識するがん抗原ペプチドを迅速に同定できるHLA-DR4トランスジェニックマウスの樹立，第71回日本癌学会学術総会，

北海道，2012年9月19日

13. 木嶋教行、保仙直毅、香川尚己、木下学、橋本直哉、杉山治夫、吉峰俊樹:グリオブラストーマにおけるWT1(Wilm's tumor 1)の機能的役割, 第71回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012年9月19日
14. 尾路祐介、福田茉莉、森井英一、辰巳直也、北條望、村上由依、斎藤千紗恵、鈴木望友、川田紗世、澄川美穂子、坪井昭博、岡芳弘、杉山治夫:固形癌におけるWT1 発現の免疫組織化学法による評価, 第71回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012年9月21日
15. 分田貴子、西田純幸、坪井昭博、保仙直毅、尾路祐介、梅田智恵、種村篤、片山一郎、岡芳弘、杉山治夫、平家勇司:がんワクチン療法と患者QOL接種痕に対するカバーメイクの導入, 第71回日本癌学会学術総会, 北海道, 2012年9月21日
16. 保仙直毅、前田哲生、福島健太郎、森本創世子、中田潤、中江吉希、西田純幸、坪井昭博、近藤忠一、門脇則光、日野雅之、尾路祐介、岡芳弘、熊ノ郷淳、金倉讓、杉山治夫、:再発ハイリスク同種造血幹細胞移植後患者に対するWT1 ペプチドワクチン第1相臨床試験, 第74回日本血液学会学術集会, 京都, 2012年10月19日
17. Oji Y, Oka Y, Tsuboi A, Hosen N, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Nakajima H, Sugiyama H: Imatinib-combined WT1 peptide vaccine immunotherapy for chronic phase CML, The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Kyoto, Oct. 20, 2012.
18. Hashii Y, Mayumura T, Matsumura R, Yoshida H, Miyashita E, Tsuboi A, Oji Y, Hosen N, Oka Y, Sugiyama H, Ozono K: WT1 peptide vaccination following allogeneic stem cell transplantation in pediatric patients, The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Kyoto, Oct. 20, 2012.
19. Kobayashi S, Takeuchi J, Ueda Y, Kurokawa M, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kihara R, Emi N, Motoji T, Sasaki k, Usuki K, Ogawa H, Sakura T, Ohyashiki K, Ozawa K, Imai K, Miyazaki Y, Morita Y, Matsuda A, Tohyama K, Kakumoto K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F: The usefulness of WT1 mRNA expression levels as a monitoring marker of MDS progression, The 74th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Kyoto, Oct. 21, 2012.
20. Kijima N, Hosen N, Kagawa N, Hahimoto N, Chiba Y, Kinoshita M, Oji Y, Sugiyama H, Yoshimine T: The effect of WT1 on tumorigenicity and apoptosis in glioblastoma, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 22, 2012.
21. Oji Y, Berneman N Z, Keilholz U, O'reilly R, Saglio G, Wargner N, Heike Y, Lundin E, Morii E, Pauwels P, Papotti M, Aanguille S, Cilloni D, Lestch A, Ohashi H, Ohno Y, Waelput W, Duregon E, Hiraoka N, Udaka K, Izumoto S, Ohno S, Iwafuchi M, Fukuda M, Tatsumi N, Kaji M, Utada M, Oka Y, Sugiyama H: International Harmonization on Immuno histochemical Evaluation of WT1 Positivity in Solid Cancers, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 22, 2012.
22. Kobayashi S, Takeuchi J, Ueda Y, Kurokawa M, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Emi N, Motoji T, Matsuda A, Tohyama K, Kakumoto K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Tokaku F: Prognostic significance of WT1 mRNA expression level in patients with myelodysplastic syndrome (MDS), The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
23. Lin Y, Fujiki F, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tani S, Nakajima

- H, Tastumi N, Morimoto S, Tamanaka T, Tachino S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H: HLA class II -restricted WT1 332-specific TCR-transduced CD4+ T Lymphocytes display a helper activity for WT1-specific CTL induction and a cytotoxicity against leukemia cells, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
24. Anguille S, Fujiki F, Lion E, Smits L E, Oji Y, Oka Y, Berneman N Z, Sugiyama H: Identification of a Wilm's tumor 1 (WT1)-derived immunogenic CD4+ T-cell epitope that is recognized in the context of common Caucasian HLA-DR haplotypes, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
25. Tachino S, Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Morimoto S, Lin Y, Tamanaka T, Kondo K, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H: Establishment and characterization of WT-specific Th17 clones, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
26. Morimoto S, Oka Y, Tsuboi A, Fujiki F, Nakajima H, Hosen N, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H: Biased usage of T cell receptor β -chain variable region genes of cancer antigen WT1-specific CTLs in patients with solid tumors and healthy donors, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
27. Hosen N, Maeda T, Fukushima K, Morimoto S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Nakajima H, Fijiki F, Tatsumi N, Nishida S, Tsuboi A, Kondo T, Hino S, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Kanakura Y, Sugiyama H: Wilm's tumor 1 (WT1) peptide vaccine as an enhancer of graft versus leukemia effects, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
28. Sawada A, Inoue M, Kondo O, Koyama-Sato M, Kawae Y, Hishikawa M, Yoneda A, Oji Y, Yasui M, Sugiyama H, Kawa K: WT-peptide vaccination in the context of the treatment of pediatric malignancies, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
29. Hahii Y, Miyamura T, Matsuura R, Yoshida H, Miyashita E, Tsuboi A, Oji Y, Hosen N, Oka Y, Ozono K, Sugiyama H: WT peptide vaccination following allogeneic stem cell transplantation in pediatric patients, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
30. Hashimoto N, Tsuboi A, Chiba Y, Kijima N, Oka Y, Hosen N, Oji Y, Kinoshita M, Kagawa N, Yoshimine T, Sugiyama H: WT1 peptide vaccination for newly diagnosed glioblastomas; phase I clinical trial of combination with tomazolomide, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
31. Egawa S, Okada T, Hayashi H, Sakata N, Nishida S, Oka Y, Sugiyama H, Unno M: Long-term follow up of Wilm's Tumor 1 (WT1) peptide vaccinated patients with chemorefractory advanced pancreatic cancer, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
32. Chiba Y, Hashimoto N, Kagawa N, Kinoshita M, Kijima N, Hirayama R, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H, Yoshimine T: Tumor-infiltrating lymphocytes and immune escape in patients with malignant glioma receiving WT1 peptide vaccination, The 6th International Conference on WT1 in Human Neoplasia, Kyoto, Nov. 23, 2012.
- H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含

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）
総括研究報告書

む)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

特記すべきことなし

II. 分担研究報告

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発

研究分担者 奥村 明之進 大阪大学 教授

研究要旨

癌を取り巻く間質や細胞は、腫瘍の微小環境に寄与し、腫瘍の進展に深く影響している。我々は、癌細胞とその微小環境との関わりを標的とした癌治療の開発を目的とした研究を進めてきた。中でも、上皮細胞が極性を失って運動性が亢進し間葉系の形質を獲得する上皮間葉転換 EMT に注目し、EMT と腫瘍悪性度の関連を解析した。今後引き続き、微小環境の制御とペプチドワクチンについての関連を解析していきたい。

A. 研究目的

EMT シグナルを制御することで肺癌を dormant な状態に維持することができれば、外科治療や放射線治療といった局所制御、全身治療である抗癌剤に加える有用な癌治療法になると考えられる。本研究の目的は、癌微小環境を調節する EMT の関連シグナル分子を明らかにし、癌細胞の EMT を制御することであり、新たな癌治療の開発につながると考えている。

B. 研究方法

肺癌周囲の間質 tumor stroma を形成する微小環境に注目し、癌細胞と周囲の間質細胞や細胞外基質のクロストークを解析する。中でも、癌細胞の EMT 誘導・癌幹細胞様形質転換における線維芽細胞(Cancer associated fibroblast: CAF)と炎症細胞(Tumor associated macrophage: TAM や Lymphocyte)の役割を明らかにし、そのシグナル伝達経路を制御することで癌細胞の悪性を抑制できるか検討する。

(倫理面への配慮) 術前に Informed Consent を得られた症例の肺癌切除標本から肺癌細胞、間質細胞を採取し、実験材料を得る。間質細胞を不死化して研究に用いることを院内で承認されており(当院臨床研究委員会へ「呼吸器外科手術で得られた新鮮切除標本を用いた不死化細胞株樹立」)、実際に蓄積しつつある。

C. 研究結果

①肺癌細胞は、肺癌関連線維芽細胞株 CAF との共培養によって、上皮様形態から Spindle な細胞に変化し、E-cadherin などの上皮系マーカーは減少し N-cadherin や Vimentin などの間葉系マーカーが上昇した。浸潤・転移能は上昇し、さらに抗癌剤や分子標的薬への耐性を獲得した。また足場非依存的培養により、

sphere 形成能が高くなっていることがわかった。以上より、CAF から分泌された液性因子によって癌細胞で EMT が誘導されることが明らかになった。また EMT 誘導によって癌幹細胞形質を獲得する可能性が示唆された

②手術標本から腫瘍周囲の癌関連線維芽細胞 CAF を初代培養し、癌細胞株と共培養したところ、①と同様に EMT が誘導された。この現象は、同時期に初代培養で得られた正常肺線維芽細胞 NF の共培養よりも EMT 誘導が迅速であり、CAF から分泌される液性因子の方が、NF に比して EMT 誘導効果が強いことが示された。

D. 考察

最近、EMT は免疫寛容に関係するといった報告が最近報告されている。我々の研究結果をふまえると、WT1 ペプチドなどの癌ワクチンに対して EMT がその効果に関与する可能性があり、EMT メカニズムを追求・制御することで、癌ワクチンの効果を高めることが期待できる。

E. 結論

従来の癌治療によって癌幹細胞様形質を維持または誘導する niche が誘導され、治療抵抗性を示す癌幹細胞が残存する可能性が示唆された。

G. 研究発表

1. 論文発表

1 Shintani Y, Abulaiti A, Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, Okumura M. Pulmonary fibroblasts induce epithelial mesenchymal transition and stemness in non-small-cell lung cancer. Ann Thorac Surg. in press

2 Shintani Y, Funakoshi Y, Inoue M,

Takeuchi Y, Okumura M, Maeda H, Ohta M. Pathological status of mediastinal lymph nodes after preoperative concurrent chemoradiotherapy determines prognosis in patients with non-small cell Lung cancer. *Ann Thorac Cardiovasc Surg.* 8:530-5, 2012.

3 Shintani Y, Ikeda N, Matsumoto T, Kadota Y, Okumura M, Ohno Y, Ohta M. Nutritional status of patients undergoing chemoradiotherapy for lung cancer. *Asian Cardiovasc Thorac Ann.* 20(2):172-6, 2012.

4 Inoue M, Hiyama K, Nakabayashi K, Morii E, Minami M, Sawabata N, Shintani Y, Nakagiri T, Susaki Y, Maeda J, Higashiyama M, Okami J, Yoshida Y, Ding J, Otomo Y, Okumura M. An accurate and rapid detection of lymph node metastasis in non-small cell lung cancer patients based on one-step nucleic acid amplification assay. *Lung Cancer* 78:212-218, 2012

5 Funaki S, Sawabata N, Abulaiti A, Nakagiri T, Shintani Y, Inoue M, Minami M, Okumura M. Significance of tumour vessel invasion in determining the morphology of isolated tumour cells in the pulmonary vein in non-small-cell lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg* 2012

2. 学会発表

1. Okumura M, Segmentectomy for non-small cell lung cancer, *European Society of Thoracic Surgeons* (31), Essen, 2012/6/10-6/13

2. Shintani Y, Fibroblasts induce epithelial-mesenchymal-transition and stemness in non-small-cell lung cancer, *The 8th International Symposium on Cancer Research and Therapy*, Tokyo, 2012/11/9-11/10

3. S.Funaki, The validity of re-resection for the solitary lung recurrence after complete resection in non-small cell lung cancer, *Asis Pacific Lung Cancer Conference* (5), Fukuoka, 2012/11/25-11/28

4. Nojiri T, Effects of low-dose human atrial natriuretic peptide for preventing cancer recurrence or metastasis in lung cancer, *Asis Pacific Lung Cancer*

Conference (5), Fukuoka, 2012/11/27-28

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

H. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他