厚生労働科学研究費補助金（第 3 次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

科学的根拠に基づくがん免疫療法の開発に関する研究

研究分担者　中面　哲也　国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター　免疫療法開発分野長

研究要旨

我々は、Glypican-3(GPC3)ペプチドワクチン療法の開発を行ってきた。その成果により製薬会社への導出も実現し、企業治験も実施されているが、全ての患者に十分な CTL の誘導が可能であったわけではない。今年度の成果として、非小細胞肺がんに対するゲフィチニブ治療での EGFR-T790M 変異による耐性克服を目指した研究の成果として、EGFR T790M 変異由来の CTL エピトープペプチドを同定して、久留米大学と共同で PCT 出願を行った。ペプチド特異的 CTL とγδT 細胞の併用療法の有効性を示すデータ、並びに、ペプチド特異的免疫療法と抗 PD-1 抗体併用療法の有用性を示すデータも得ることができた。さらなる強力な新規免疫治療、あるいは併用療法の開発が必要であり、今後も新規ペプチドワクチン療法、さらに強力な新規免疫治療、あるいは併用療法の開発を目指して研究を推進する。

A．研究目的

我々は、Glypican-3(GPC3)ペプチドワクチン療法の開発を行ってきた。その成果により製薬会社への導出も実現し、企業治験もスタートしたところであるが、全ての患者に十分な CTL の誘導が可能であったわけではない。またペプチドワクチンによりがんの完全寛解をきたす症例はまれである。進行がんに対するペプチドワクチン療法の効果は限定的であると言わざるを得ず、さらに強力な新規免疫治療、あるいは併用療法の開発が必要である。

B．研究方法

1）さらに強力な免疫細胞療法の開発―ペプチド特異的CTL とγδT細胞大量培養法の確立　我々は、新規培養法により、ペプチド特異的 CTL とγδT 細胞を大量に誘導する方法を確立してきた。強力な細胞療法の臨床応用を目指して、基礎研究で有用性を検討する。

2）ペプチド特異的免疫療法・抗 PD-1 抗体併用療法の有効性の検討　これらの併用療法が期待通りの有効性を示せるかどうか、in vitro の実験系と in vivo のマウスモデルを用いて検討する。

3）進行食道がん・大腸がんを対象にした新規ペプチドワクチン療法の臨床試験の計画　自ら同定したHSP105ペプチド4種類を用いた臨床試験を計画し、実施を目指す。

4）EGFR-T790M 変異由来抗原を標的としたがんワクチン療法の開発　非小細胞肺がんに対するゲフィチニブ治療での EGFR-T790M 変異による耐性克服を目指した研究として、EGFR T790M 変異由来の CTL エピトープペプチドの同定を試みる。

（倫理面への配慮）

国立がん研究センターでは、教育研究に関わる生命倫理ならびに安全管理に関する問題を審議して、これらが適切に遂行されるように、国立がん研究センター倫理審査委員会が設置され規則が整備されている。本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がん研究センター倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施する。その際、研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施する。患者に対しては説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認する。また、患者のプライバシー保護に最大の努力を払う。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ている。

C．研究結果

1）さらに強力な免疫細胞療法の開発を目的に、PBMC をペプチドとゾレドロン酸で共刺激することにより、ペプチド特異的 CTL とγδT 細胞の大量培養法を確立してきた。機能解析の結果、γδT 細胞は肝細胞がんに対して細胞傷害活性を示し、ゾレドロン酸前処理によりその効果は増強した。両者の相加効果も検証し、現在臨床試験の計画を検討中である。

2）ペプチド特異的免疫療法・抗 PD-1 抗体併用療

法の有効性の検討においては、OVA ペプチドワクチン腫瘍内局注と抗 PD-1 抗体を併用すると、ペプチド特異的 CTL の抗腫瘍免疫応答が明らかに増強した。また GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンに抗 PD-1 抗体を添加培養することで、抗原ペプチド特異的な機能増強が確認され、GPC3 ペプチド特異的免疫療法と抗 PD-1 抗体併用療法の開発を行う根拠の１つとなる結果を得ることができた。

3）マウスでの非臨床試験を追加し、進行食道がん・大腸がんを対象にした新規ペプチドワクチン療法の臨床試験の計画を倫理審査委員会に申請して、臨床試験の実施を目指しているが、未だ承認を得られていない。

4）EGFR T790M 変異由来の CTL エピトープペプチドを同定して、久留米大学と共同で PCT 出願を行った。

D．考察

我々は、Glypican-3(GPC3)ペプチドワクチン療法の開発を行ってきた。臨床試験で得られた貴重な検体を用いた免疫学的な解析により、様々なエビデンスも得られた。その成果により製薬会社への導出も実現し、企業治験も実施されているが、全ての患者に十分な CTL の誘導が可能であったわけではない。進行がんに対するペプチドワクチン療法の効果はまだまだ限定的であると言わざるを得ず、さらに強力な新規免疫治療、あるいは併用療法の開発を目指す。

E．結論

非小細胞肺がんに対するゲフィチニブ治療での EGFR-T790M変異による耐性克服を目指した研究の成果として、EGFR T790M 変異由来のCTLエピトープペプチドを同定して、久留米大学と共同でPCT出願を行った。ペプチド特異的CTLとγδT細胞の併用療法の有効性を示すデータ、並びに、ペプチド特異的免疫療法と抗PD-1抗体併用療法の有用性を示すデータも得ることができた。

F．研究発表

1. 論文発表

1) Sawada Y, Komori H, Tsunoda Y, Shimomura M, Takahashi M, Baba H, Ito M, Saito N, Kuwano H, Endo I, Nishimura Y, Nakatsura T. Identification of HLA-A2 or HLA-A24-restricted CTLepitopes for potential HSP105-targeted immunotherapy in colorectal cancer. Oncol. Rep.,2014,31(3),1051-8.

2) Suzuki S, Shibata K, Kikkawa F, Nakatsura T. Significant Clinical Response of Progressive Recurrent Ovarian Clear Cell Carcinoma to Glypican-3-derived Peptide Vaccine Therapy: Two Case Reports. Human Vaccines & Immunotherapeutics.,2014,10(2),1-8.

3) Tada Y, Yoshikawa T, Shimomura M, Sawada Y, Sakai M,Shirakawa H, Nobuoka D and Nakatsura T. Analysis of cytotoxic T lymphocytes from a patient with hepatocellular carcinoma who showed a clinical response to vac cination with a glypican‐3‐derived peptide. Int. J. Oncol., 2013,43(4):1019-26.

4) Sawada Y, Yoshikawa T, Fujii S, Mitsunaga S, Nobuoka D, Mizuno S, Takahashi M, Yamauchi C, Endo I, Nakatsura T. Remarkable tumor lysis in a hepatocellular carcinoma patient immediately following glypican-3-derived peptide vaccination: An autopsy case. Human Vaccines and Immunotherapeutics., 2013,9(7):1-6.

5) Nobuoka D, Yoshikawa T, Fujiwara T, and Nakatsura T. Peptide intra-tumor injection for cancer immunotherapy：Enhancement of tumor cell antigenicity is a novel and attractive strategy. Human Vaccines and Immunotherapeutics., 2013,9(6):1234-6.

6) Nobuoka D, Yoshikawa T, Takahashi M, IwamaT, Horie K, Shimomura M, Suzuki S, SakemuraN, Nakatsugawa M, Sadamori H, Yagi T, Fujiwara T, Nakatsura T. Intratumoral peptide injectionenhances tumor cell antigenicity recognized by cytotoxic T lymphocytes: a potential option for improvement of antigen-specific cancer immunotherapy. Cancer Immunol Immunother., 2013,62(4):639-52.

7) Iwama T, Horie K, Yoshikawa T, Nobuoka D, Shimomura M, Sawada Y, Nakatsura T. Identification of an H2-K^b or H2-D^b restricted and glypican-3-derived cytotoxic T-lymphocyte epitope peptide. Int. J. Oncol., 2013,42(3):831-8.

8) Sawada Y, Ofuji K, Sakai M, Nakatsura T. Immunotherapy for hepatocellular carcinoma: current status and future perspectives.Liver Tumor, INTECH, 2013,59-89.

9) Nakatsura T, Nakamura Y. Chapter21. Immunotherapies for Liver Tumors. In: Yuman Fong, Jia-hong Dong.(eds). Hepatobiliary Cancer, People’s Medical Publishing House-USA, 2013,607-38.

10) 大藤和也,中面哲也,特集　変貌するがん免疫療法　ペプチドカクテルワクチン療法, 腫瘍内科,2013,12(2):122-9.

11) **澤田雄, 中面哲也**, **第1部 第1章 腫瘍免疫における免疫担当細胞と免疫分子の役割　6.腫瘍抗原の分類と抗原特異的免疫療法の免疫学的評価,実験医学増刊号**, 2013,31(12):66-71.
12) **酒井麻友子，中面哲也，特集　外科医のための癌免疫療法-基礎と臨床　臨床編　肝がんに対するペプチドワクチン療法，臨床外科，**2013,68(8):920-5.
13) **大藤和也，中面哲也，トピックス** 2.**肝癌のワクチン療法，コンセンサス癌治療，ヘルス出版，**2013,12(2):114-6.

2**．学会発表**

1) **ペプチド**-HLA class **Ⅰ間相互作用に基づいた細胞傷害性**T**細胞の機能評価についての検討、齊藤桂吾、中面哲也、第** 17 **回日本がん免疫学会（山口）**2013 **年** 7 **月** 3 **日～**5 **日**
2) Glypican-3(GPC3) **ペプチドワクチン投与後に誘導されたペプチド特異的** CTL **の腫瘍内浸潤の証明、吉川聡明、下村真菜美、酒井麻友子、大藤和也、高橋真理、澤田雄、信岡大輔、中面哲也、第** 17 **回日本がん免疫学会（山口）**2013 **年** 7 **月** 3 **日～**5 **日**
3) **ゾレドロン酸処理をした肝細胞がんに対するγδ** T **細胞の細胞傷害性の検討、須貝詩織、吉川聡明、下村真菜美、中面哲也、第** 17 **回日本がん免疫学会（山口）**2013 **年** 7 **月** 3 **日～**5 **日**
4) **肝細胞がんと小児がんに対するペプチドワクチン療法の開発、中面哲也、コアシンポジウム　がんペプチドワクチン療法の最近の進歩と臨床応用の展望、第** 72 **回日本癌学会（横浜）**2013 **年** 10 **月** 3 **日～**5 **日**
5) Glypican-3 **ペプチドワクチン投与によって誘導されたペプチド特異的** CTL **の腫瘍内浸潤の証明、吉川聡明、下村真菜美、酒井麻友子、大藤和也、高橋真理、澤田雄、信岡大輔、中面哲也、第** 72 **回日本癌学会（横浜）**2013 **年** 10 **月** 3 **日～**5 **日**
6) **肝細胞がんに対するγδ**T **細胞の細胞傷害性はゾレドロン酸処理で増強する、須貝 詩織、吉川 聡明、下村 真菜美、中面 哲也、第** 72 **回日本癌学会（横浜）**2013 **年** 10 **月** 3 **日～**5 **日**
7) **リンパ球減少誘導後のホメオスタティックプロリファレーションを利用した癌抗原特異的免疫療法の増強を目指した検討、藤浪紀洋、吉川聡明、澤田雄、下村真菜美、岩間達章、中面哲也、第** 72 **回日本癌学会（横浜）**2013 **年** 10 **月** 3 **日～**5 **日**
8) Possibility of immunotherapy Targeting EGFR T790M Mutation for EGFR TKI-resistant Non-Small Cell Lung Cancer, Ofuji K, Yoshikawa T, Tada Y, Sakai M, Shimomura M, Yamada T, Sasada T, Nakatsura T, The **Ⅰ**nternational Symposium on Immunotherapy(London),October 11-12,2013
9) **癌ペプチドワクチンの展望：企業治験と医師主導臨床治験、シンポジウム、中面哲也、第** 26 **回日本バイオセラピィ学会（盛岡）**2013 **年** 12 **月** 5 **日～**6 **日**
10) **非小細胞肺がんにおける** EGFR-TKI **に対する耐性獲得変異** EGFR T790M **由来抗原の免疫原性の評価、大藤和也、吉川聡明、下村真菜美、多田好孝、酒井麻友子、中面哲也、第** 26 **回日本バイオセラピィ学会（盛岡）**2013 **年** 12 **月** 5 **日～**6 **日**
11) CTL **およびγδ**T **細胞の細胞移入療法と効果増強を目指した検討、粕谷匡史、下村真菜美、多田好孝、吉川聡明、安部良、中面哲也、第** 26 **回日本バイオセラピィ学会（盛岡）**2013 **年** 12 **月** 5 **日～**6 **日**
12) **放射線治療との融合も期待される最近のがん免疫療法の進歩、中面哲也、第５回　日本放射線外科学会（高崎）**2014 **年** 1 **月** 18 **日**

G．知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1.**特許取得**
該当なし

2.**実用新案登録**
該当なし

3.**その他**
該当なし