

201332007A

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)

難治性がんに対するがん幹細胞標的ペプチドワクチン療法の開発

平成 25 年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 佐藤 昇志 (札幌医科大学)

平成 26 年 (2014 年) 5 月

目 次

I. 総括研究報告書

難治性がんに対するがん幹細胞標的ペプチドワクチン療法の開発	1
佐藤 昇志 (札幌医科大学)	
(資料) 第 I 相試験総括報告書	

II. 分担研究報告書

鳥越 俊彦 (札幌医科大学)	257
平田 公一 (札幌医科大学)	262
釣田 義一郎 (東京大学)	264
安井 寛 (東京大学)	266
瀬谷 司 (北海道大学)	268
杉田 修 (北海道大学)	271

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	275
---------------------------	-----

IV. 研究成果の刊行物・別刷	283
-----------------------	-----

I. 総括研究報告書

難治性がんに対するがん幹細胞標的ペプチドワクチン療法の開発

佐藤 昇志（札幌医科大学）

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)

総括研究報告書

難治性がんに対するがん幹細胞標的ペプチドワクチン療法の開発

研究代表者 佐藤 昇志 札幌医科大学 教授

研究要旨

本研究は、がん患者体内にがん幹細胞障害性T細胞を誘導し、難治性固形がんの縮小および無増悪生存期間の延長が期待できる新規がん治療ペプチドワクチンの製剤化を目的とする。具体的には、がん幹細胞に発現する HLA-A24 拘束性の2種類の抗原ペプチドに関して、進行膵臓がん (SVN-2B) と進行大腸がん (OR7C1-A24) の患者を対象に臨床試験を実施し、安全性と有効性を検証することを目的とする。特に、これまで自主臨床研究を先行実施してきた SVN-2B ペプチドに関しては、医師主導型治験として第1相試験と前期第2相試験を実施する。

H25年度は SVN-2B ペプチド第1相試験を終了。安全性と免疫効果、腫瘍抑制効果を評価した。抗腫瘍効果は、SD 8/15 症例(病勢コントロール率 53%)、Gemcitabine 不応性進行膵臓がん 10 例の無増悪生存期間中央値は 3.7 ヶ月と、TS-1 に匹敵する有効性が確認された。免疫効果を指標としたペプチド至適投与量は 1.0mg に決定。これらの結果に基づき第2相試験を計画。PMDA 薬事戦略相談を経て10月より有効な治療法のない進行膵臓がん患者を対象とした SVN-2B・インターフェロン併用投与の有効性を検証する前期第2相試験を開始した。第2相試験はプラセボ群を含む無作為化二重盲検3群間比較試験とし、目標症例数は71例に設定した。

分担研究としては、(1)ワクチンの免疫学的効果を検証する免疫モニタリング解析、(2)がん組織の病理組織学解析、(3)新規免疫指標の探索、(4)ワクチンアジュバントの開発研究を実施した。

研究分担者

鳥越 俊彦 (札幌医科大学・准教授)
平田 公一 (札幌医科大学・教授)
水口 徹 (札幌医科大学・准教授)
釣田 義一郎 (東京大学・講師)
安井 寛 (東京大学・特任講師)
瀬谷 司 (北海道大学・教授)
松本 美佐子 (北海道大学・特任准教授)
杉田 修 (北海道大学・教授)
田村 保明 (北海道大学・特任教授)
廣橋 良彦 (札幌医科大学・助教)

我々は過去20年以上にわたってヒトがん抗原の同定とそれに対する免疫応答の分子機構を解明し、免疫原性の高いヒトがん抗原とそのT細胞エピトープを同定してきた。さらにこれらのがん治療ワクチンへ応用し、平成14年度から種々の進行がんを対象としたペプチド単剤療法とインターフェロン併用療法の自主臨床研究を実施。安全性と臨床効果を確認してきた。一方、我々は幹細胞様形質をもつ高悪性度がん細胞の抗原解析も行っており、がん幹細胞特異抗原とそのT細胞エピトープの同定にも成功した。

A. 研究目的

本研究は、これまで積み上げてきた免疫学の基礎研究成果と臨床研究成果をもとにして、ヒトがんの根幹細胞と考えられるがん幹細胞を標的とするペプチドワクチンの創薬を目的とし、難治性がん、特に膵臓がんと進行大腸がんに対する副作用が少なく、かつ効果的ながん免疫治療法の確立を目指す。

本研究は、がん幹細胞を障害する活性の高いT細胞を効果的に誘導する2種類のペプチドワクチンの創出を目指し、医師主導型治験として第1相および前期第2相試験を遂行することを目的とする。

H25年度に完了した SVN-2B ペプチドワクチン第1相試験の目的は、進行消化器がん患者を対象として SVN-2B 単独投与時の安全性を

評価することにより、副次的に免疫効果を評価して至適投与量を決定。さらに腫瘍縮小効果を評価して前期第2相試験につなげる。10月から開始した前期第2相試験は、SVN-2B・インターフェロン併用投与の有効性を検証する目的で実施する。

B. 研究方法

本研究組織では次に挙げる(1)～(4)の課題に対し分担研究組織で取り組む。

(1) SVN-2B ペプチドワクチンの医師主導治験準備と実施(佐藤・鳥越・平田・水口・杉田、釣田、安井)

H23 年度実施項目

1. GMP 製剤(原薬)の委託製造
2. 治験実施体制の構築
3. PMDA 薬事戦略相談
4. GCP 準拠前臨床試験の完結
5. 治験薬概要書の作成
6. 治験実施計画書の作成
7. 各種 SOP の作成

H24 年度実施項目

1. PMDA 治験前相談(6/26)
2. IRB 審査(7/18)
3. 治験届け提出(7/20)
4. 患者登録受付開始(8/30)
5. 製薬企業との連携会議(10/31, 12/4)
6. PMDA 薬事戦略事前面談(12/12)
7. 効果安全性評価委員会(3/25)

H25 年度実施項目

1. 第1相試験の完了
 - (1) 症例検討会
 - (2) 終了届け提出、監査
 - (3) 総括報告書の作成
2. 第2相試験の準備
 - (1) 製薬企業との連携
 - (2) 多施設治験実施体制の整備
 - (3) PMDA 薬事戦略相談、治験前相談
3. 治験薬概要書、治験実施計画書作成
4. 第2相試験開始

SVN-2B 第1相試験の概要

別添資料(総括報告書)を参照。

1. 治験課題名:有効な治療法のない進行消化器がん患者に対するSVN-2B単独投与の第I相臨床試験
2. 主要評価項目:安全性
 - ①有害事象
 - ②臨床検査値、バイタルサイン、ほか
3. 副次評価項目:
 - ①免疫学的効果:テトラマー, ELISPOT
 - ②腫瘍縮小効果:RECISTによる
4. 治験薬投与方法
SVN-2B をアジュバント Montanide エマル

ジョンとして病巣近傍の皮下に投与。1回投与量は、登録後にランダム割付け。

- ①0.3mg 群:SVN-2B 0.3mg/ body/ 2 週
 - ②1.0mg 群:SVN-2B 1.0mg / body/ 2 週
 - ③3.0mg 群:SVN-2B 3.0mg / body/ 2 週
- 各群とも4回投与。

5. 試験方法

単施設非盲検無作為化比較試験

6. 対象患者と目標症例数

HLA-A*2402を有する進行消化器がん、胆肝膵臓がん患者
安全性かつ免疫学的評価可能例数として計15例(1群5例、計3群)

7. 症例登録期間

第1版:H24.8.30よりH25.3.31

第2版:H25.9.30まで延長

SVN-2B 第2相試験の概要

1. 治験課題名:有効な治療法のない進行膵臓がん患者におけるプラセボ、SVN-2B 単独投与を対照としたSVN-2B/STI-01 併用療法の無作為化二重盲検群間比較試験
2. 主要評価項目:安全性
 - ①無増悪生存期間
3. 副次評価項目:
 - ①免疫学的効果:テトラマー, ELISPOT
 - ②腫瘍縮小効果:RECISTによる
 - ③安全性
4. 治験薬投与方法と期間
SVN-2B 1.0mg をアジュバント Montanide エマルジョンとして病巣近傍の皮下に2週間ごと投与。インターフェロンベータは300万単位を毎週皮下投与。9週目以後は2週間ごと投与。
 - ①併用群:SVN-2B・インターフェロン併用
 - ②単独群:SVN-2B のみ使用
 - ③プラセボ群:生理食塩水各群とも RECIST により、PD と判定されるまで投与(STEP1)。その後同意を得てSTEP2に移行。STEP2ではirRCによりirPDと判定されるまで全員に併用群と同じ治験薬を投与。
5. 試験方法
多施設二重盲検無作為化群間比較試験
6. 対象患者と目標症例数
HLA-A*2402を有する進行膵臓がん患者有効性評価可能例数として計71例
7. 症例登録期間
第1版:H25.10月より24ヵ月

(2) ペプチドワクチンのサロゲートマーカーおよび効果予測マーカー探索解析(鳥越・田村)

SVN-2B 第1相試験約21症例の臨床データと免疫モニタリングデータ、組織染色データを統計学的に解析し、ワクチン効果のサロゲートマカ

一とワクチン効果を予測できる免疫指標を探索する。

- (3) OR7C1 ペプチドワクチンの臨床試験準備(鳥越・廣橋・今井・釣田)
H24年度に引き続き、臨床試験の準備を以下の手順で実施する。
1. 新規 CTL エピトープの探索
 2. 抗原発現評価系の構築
 3. 大腸がんの予後との相関性解析

- (4) ペプチドワクチンのアジュバント開発(瀬谷・松本)

TLRリガンドを中心に、ペプチドワクチンによる CTL 誘導に安全で効果的なアジュバントを探索する。また、そのメカニズムを解析する。

(倫理面への配慮)

本研究には、医師主導型治験、患者由来の細胞組織の培養、遺伝子改変動物を用いた腫瘍移植実験が含まれているため、大学内部の治験審査委員会、自主臨床研究審査委員会、動物実験倫理審査委員会に諮り、患者へのインフォームドコンセントと患者由来試料の扱い方に関して手順書を作成し、医学部長の許可を得て実施する。なお、インフォームド・コンセントは本研究内容をよく理解した、担当医師あるいは研究者が試料提供機関の責任者の監督のもと行う。臨床試験は、GCP 基準に準じた臨床試験体制のもとで患者の人権及び安全性の確保に十分配慮し、臨床試験のデータの信頼性を確保しつつ研究を遂行する。

C. 研究結果

- (1) SVN-2B ペプチドワクチンの医師主導治験準備と実施(佐藤・鳥越・平田・水口・杉田、今井・釣田)

1. 第1相試験登録終了(5/30)
2. 症例検討会(7/12)
3. 治験終了届け提出(9/20)
4. 総括報告書総括報告書(案)作成(添付資料参照)

表1: PPS 対象患者の画像評価結果 (H25.9.20)

登録番号	癌種	割付	画像評価 RECIST
117	膵がん	0.3mg	SD
119	膵がん	0.3mg	SD
101	膵がん	0.3mg	PD
118	膵がん	0.3mg	PD

104	大腸がん	0.3mg	PD
107	膵がん	1.0mg	SD
121	大腸がん	1.0mg	SD
103	胃がん	1.0mg	SD
108	大腸がん	1.0mg	PD
116	大腸がん	1.0mg	PD
120	膵がん	3.0mg	SD
112	膵がん	3.0mg	SD
115	膵がん	3.0mg	SD
113	膵がん	3.0mg	PD
111	膵がん	3.0mg	PD

①安全性評価

すべての症例で本薬剤と因果関係を示す Grade 3 以上の重篤な有害事象は1例も認めず、Grade 2 以下の有害事象(発熱、投与局所硬結)を認めるにとどまる。

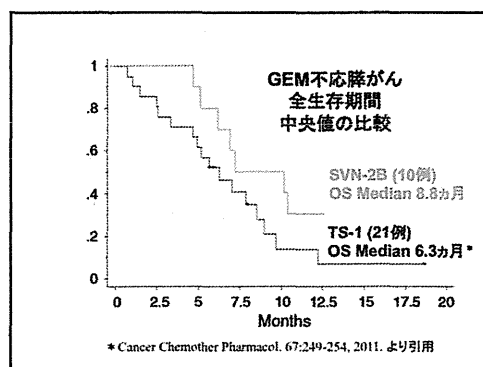
②有効性評価

抗腫瘍効果は、SD 8/15 症例(病勢コントロール率 53%)、Gemcitabine 不応性進行膵臓がん 10 例の無増悪生存期間中央値は 3.7 ヶ月と、TS-1 に匹敵する有効性が確認された。全生存期間中央値は 8.8 カ月でありであり、TS-1 の 6.3 カ月(Cancer Chemother. Pharmacol, 67, 249-254. 2011 の報告)よりも延長していた(図 1)。

抗腫瘍効果 SD 症例 8 例のうち、6 例でテトラマー解析または ELISPOT 解析によるワクチン特異的 CTL の上昇が認められた。特にテトラマー解析値との相関性が良好であった。

テトラマー陽性 T 細胞上昇値の平均値が最も高かったのは 1.0mg 投与群であった。この結果をもとに、第 2 相試験は 1.0mg 投与で実施することとなった

図 1 GEM 不応膵臓がんに対する延命効果



5. 第2相試験の準備と実施

- ① 製薬企業との連携会議
- ② PMDA 薬事戦略事前相談(4/19)
- ③ PMDA 薬事戦略対面助言(7/30)
- ④ 札幌医大および東大医科研にて治験審

査委員会(9月)

⑤ 治験届け提出。試験開始(10/2)

H26. 5. 8 現在、約 25 例が登録され、試験を継続中である。

(2) OR7C1-A24 ペプチドワクチンの臨床研究準備と実施 (鳥越・廣橋・今井・釣田)

1. 新規 CTL エピトープの探索

HLA-A*0201 および HLA-A*2402 の両方に提示される新規エピトープペプチドを同定した。

2. 抗原発現評価系の確立

抗 OR7C1 抗体を用いて大腸がん組織を免疫染色し、抗原蛋白の発現を検出することに成功。抗原発現評価系を樹立した。

3. 大腸がんの予後との相関性解析

大腸がん組織の免疫染色によって、発現と患者予後との相関性を評価した。その結果その結果、発現が高いほど予後不良であることが判明した。

(3) ペプチドワクチンのサロゲートマーカーおよび効果予測マーカー探索 (鳥越・田村)

SVN-2B 第 1 相試験 PPF 対象 15 症例の腫瘍抑制効果と患者血液の免疫モニタリング結果、およびがん組織の免疫染色解析結果を分析し、以下の知見を得た。

1. SD 症例におけるワクチン投与後のテトラマー陽性 T 細胞数は、PD 症例と比較して有意に高値である。
2. ワクチン投与前のがん組織における HLA class I 発現が陰性の症例は、ワクチンによる腫瘍縮小効果が期待できない。
3. テトラマー陽性 T 細胞上昇値の平均値が最も高かったのは 1.0mg 投与群であった。
4. テトラマー陽性 T 細胞の上昇値が低かった 3 症例の患者治療背景を分析したところ、いずれも過去に免疫細胞療法を受けていた。
5. ワクチン投与前のがん組織に浸潤している CD8 陽性細胞数と FoxP3 陽性 T 細胞数は、腫瘍抑制効果との相関性は認められなかった。

(4) ペプチドワクチンのアジュバント開発 (瀬谷・松本)

ペプチドワクチンによる CTL 誘導に最適な、安全かつ有効性の高いアジュバントを探索し、炎症を惹起することなく最も効果的に Type I インターフェロンを誘導できる分子を同定した。動物モデルを用いて安全性の評価を実施。臨床試験に治験薬 (RNA) 大量合成方法も確立された。

D. 考察

本年度、SVN-2B ペプチドワクチン第 1 相

試験を終了し、安全性の確立、至適投与量の決定、腫瘍抑制効果の確認、免疫効果の確認、そしてバイオマーカーの探索まで行った。

第 2 相試験では、IFN- β の併用療法の有効性を検証する試験を開始した。

今後は速やかに製薬企業主導の後期第 2 相試験に橋渡しできるように、症例登録を迅速化する必要がある。

OR7C1-A24 ペプチドに関しては、進行大腸がん患者を対象に自主臨床研究を開始する予定である。

ペプチドワクチンの効果予測に有用なマーカーとして、腫瘍組織の HLA class I 免疫染色法が有用であることが示唆され、効果予測マーカーとしての有用性評価を第 2 相試験において実施する必要がある。またさらに有用なバイオマーカーの探索も継続する必要がある。

効果的に CTL を誘導するアジュバントの探索も計画通り順調に進んでいる。

E. 結論

H25 年度、着実に医師主導治験 (第 1 相試験) を完遂し、第 2 相試験を開始した。すみやかに企業主導治験に橋渡しをするためにも、製薬企業との連携が今後ますます重要となる。

F. 健康危険情報

現時点では特記すべき事項はない。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Morita R, Hirohashi Y, Suzuki H, Takahashi A, Tamura Y, Kanaseki T, Asanuma H, Inoda S, Kondo T, Hashino S, Hasegawa T, Tokino T, Toyota M, Asaka M, Torigoe T, Sato N. DNA methyltransferase 1 is essential for initiation of the colon cancers. *Exp Mol Pathol*. 94:322-329, 2013.
2. Kiriya K, Hirohashi Y, Torigoe T, Kubo T, Tamura Y, Kanaseki T, Takahashi A, Nakazawa E, Saka E, Ragnarsson C, Nakatsugawa M, Inoda S, Asanuma H, Takasu H, Hasegawa T, Yasoshima T, Hirata K, Sato N. Expression and function of FERMT genes in colon carcinoma cells. *Anticancer Res*. 33:167-173, 2013.
3. Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Asanuma H, Inoue R, Nishida S, Tanaka T, Fukuta F, Masumori N, Sato N, Tsukamoto T. Prognostic impact of the expression of ALDH1 and SOX2 in urothelial cancer of the upper urinary tract. *Mod Pathol*. 26:117-124, 2013.

4. Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Asanuma H, Inoue R, Nishida S, Tanaka T, Masumori N, Sato N, Tsukamoto T. Nuclear, but not cytoplasmic, localization of survivin as a negative prognostic factor for survival in upper urinary tract urothelial carcinoma. *Virchows Arch.* 462:101-107, 2013.
5. Kameshima H, Tsuruma T, Kutomi G, Shima H, Iwayama Y, Kimura Y, Imamura M, Torigoe T, Takahashi A, Hirohashi Y, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sato N, Hirata K. Immunotherapeutic benefit of α -interferon (IFN α) in survivin2B-derived peptide vaccination for advanced pancreatic cancer patients. *Cancer Sci.* 104:124-129, 2013.
6. Nishida S, Hirohashi Y, Torigoe T, Inoue R, Kitamura H, Tanaka T, Takahashi A, Asanuma H, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Prostate cancer stem-like cells/cancer-initiating cells have an autocrine system of hepatocyte growth factor. *Cancer Sci.* 104:431-436. 2013.
7. Yamada R, Takahashi A, Torigoe T, Morita R, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kubo T, Watarai K, Kondo T, Hirohashi Y, Sato N. Preferential expression of cancer/testis genes in cancer stem-like cells: proposal of a novel sub-category, cancer/testis/stem gene. *Tissue Antigens.* 81:428-434.2013.
8. Ikeda K, Torigoe T, Matsumoto Y, Fujita T, Sato N, Yotsuyanagi T. Resveratrol inhibits fibrogenesis and induces apoptosis in keloid fibroblasts. *Wound Repair Regen.* 21:616-623. 2013.
9. Torigoe T, Hirohashi Y, Yasuda K, Sato N. Constitutive expression and activation of stress response genes in cancer stem-like cells/tumour initiating cells: Potent targets for cancer stem cell therapy. *Int J Hyperthermia.* 29:436-441. 2013.
10. Kutomi G, Tamura Y, Tanaka T, Kajiwara T, Kukita K, Ohmura T, Shima H, Takamaru T, Satomi F, Suzuki Y, Torigoe T, Sato N, Hirata K. Human Endoplasmic Reticulum Oxidoreductin 1- α (hERO1- α) is a Novel Predictor for Poor Prognosis of Breast Cancer. *Cancer Sci.* 104:1091-1096. 2013.
11. Kuroda T, Hirohashi Y, Torigoe T, Yasuda K, Takahashi A, Asanuma H, Morita R, Mariya T, Asano T, Mizuuchi M, Saito T, Sato N. ALDH1-High Ovarian Cancer Stem-Like Cells Can Be Isolated from Serous and Clear Cell Adenocarcinoma Cells, and ALDH1 High Expression Is Associated with Poor Prognosis. *PLoS One.* 8: 2013.
12. Yamamoto T, Tamura Y, Kobayashi JI, Kamiguchi K, Hirohashi Y, Miyazaki A, Torigoe T, Asanuma H, Hiratsuka H, Sato N. Six-transmembrane epithelial antigen of the prostate-1 plays a role for in vivo tumor growth via intercellular communication. *Exp Cell Res.* 319:2617-2626, 2013.
13. Michifuri Y, Hirohashi Y, Torigoe T, Miyazaki A, Fujino J, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kobayashi J, Sasaki T, Takahashi A, Nakamori K, Yamaguchi A, Hiratsuka H, Sato N. Small proline-rich protein-1B is overexpressed in human oral squamous cell cancer stem-like cells and is related to their growth through activation of MAP kinase signal. *Biochem Biophys Res Commun.* 439:96-102. 2013.
14. Matsuzaki J, Torigoe T, Hirohashi Y, Tamura Y, Asanuma H, Nakazawa E, Saka E, Yasuda K, Takahashi S, Sato N. Expression of ECRG4 is associated with lower proliferative potential of esophageal cancer cells. *Pathol Int.* 63:391-397. 2013.
15. Yasuda K, Torigoe T, Morita R, Kuroda T, Takahashi A, Matsuzaki J, Kochin V, Asanuma H, Hasegawa T, Saito T, Hirohashi Y, Sato N. Ovarian cancer stem cells are enriched in side population and aldehyde dehydrogenase bright overlapping population. *PLoS One.* 8:2013.
16. Kanaseki T, Lind KC, Escobar H, Nagarajan N, Reyes-Vargas E, Rudd B, Rockwood AL, Van Kaer L, Sato N, Delgado JC, Shastri N. ERAAP and tapasin independently edit the amino and carboxyl termini of MHC class I peptides. *J Immunol.* 191:1547-1555. 2013.
17. Takahashi A, Hirohashi Y, Torigoe T, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Kochin V, Saijo H, Kubo T, Nakatsugawa M, Asanuma H, Hasegawa T, Kondo T, Sato N. Ectopically expressed variant form of sperm mitochondria-associated cysteine-rich protein augments tumorigenicity of the stem cell population of lung adenocarcinoma cells. *PLoS One.* 8: 2013
18. Tanaka T, Kitamura H, Inoue R, Nishida S, Takahashi-Takaya A, Kawami S, Torigoe T, Hirohashi Y, Tsukamoto T, Sato N, Masumori N. Potential Survival Benefit of Anti-Apoptosis Protein: Survivin-Derived Peptide Vaccine with and without Interferon Alpha Therapy for Patients with Advanced or Recurrent Urothelial Cancer-Results from Phase I Clinical Trials. *Clin Dev Immunol.* 2013 Nov 20. (in print)
19. Emori M, Tsukahara T, Murase M, Kano M, Murata K, Takahashi A, Kubo T, Asanuma H, Yasuda K, Kochin V, Kaya M, Nagoya S, Nishio J, Iwasaki H, Sonoda T, Hasegawa T,

- Torigoe T, Wada T, Yamashita T, Sato N. High Expression of CD109 Antigen Regulates the Phenotype of Cancer Stem-Like Cells/Cancer-Initiating Cells in the Novel Epithelioid Sarcoma Cell Line ESX and Is Related to Poor Prognosis of Soft Tissue Sarcoma. PLoS One. 8(12): 2013.
20. Saijo H, Hirohashi Y, Torigoe T, Kochin V, Takahashi H, Sato N. Cytotoxic T lymphocytes: the future of cancer stem cell eradication? Immunotherapy. 5: 549-51, 2013.
21. Morita R, Hirohashi Y, Nakatsugawa M, Kanaseki T, Torigoe T, Sato N. Production of Multiple CTL Epitopes from Multiple Tumor-Associated Antigens. Methods Mol Biol. 1139:345-355. 2014.
22. Tanaka T, Torigoe T, Hirohashi Y, Sato E, Honma I, Kitamura H, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Hypoxia-inducible factor (HIF)-independent expression mechanism and novel function of HIF prolyl hydroxylase-3 in renal cell carcinoma. J Cancer Res Clin Oncol. 140:503-513. 2014.
23. Morita R, Nishizawa S, Torigoe T, Takahashi A, Tamura Y, Tsukahara T, Kanaseki T, Sokolovskaya A, Kochin V, Kondo T, Hashino S, Asaka M, Hara I, Hirohashi Y, Sato N. Heat shock protein DNAJB8 is a novel target for immunotherapy of colon cancer-initiating cells. Cancer Sci. 2014 Jan 23. (in print)
24. 廣橋良彦、鳥越俊彦、佐藤昇志：免疫療法の標的としてのがん細胞亜集団、実験医学 31：1904-1907, 2013.

2.学会発表

1. 佐藤昇志：がん幹細胞に対するワクチン治療、第7回沖縄消化管臨床病理研究会特別講演、沖縄、2月22日、2013年。
2. 佐藤昇志：がんペプチドワクチンへの期待と具現化、癌治療開発を目指した最前線 第4のがん治療法“がんペプチドワクチン”オーガナイザー講演、東京、3月18日、2013年。
3. 佐藤昇志: Immunobiological linkage of human cancer stem cell/cancer-initiating cell with cellular stress response、第86回日本生化学会大会シンポジウム、横浜、9月13日、2013年。
4. 佐藤昇志：Human cancer stem cells and natural antigenic peptides、第72回日本癌学会学術総会シンポジウム、横浜、10月5日、2013年。
5. 佐藤昇志：癌免疫、第45回日本小児感染症学会総会・学術集会特別講演、札幌、10月27日、2013年。
6. 佐藤昇志：がん免疫治療・予防 -がん幹細胞の免疫制御を介して-、第45回和歌山県医師会医

学会総会特別講演、和歌山、12月1日、2013年。

7. Noriyuki Sato：Immunological regulation of human cancer stem cell /cancer-initiating cells(CSC/CIC)、The 4th International Symposium on Carcinogenic Spiral Infection, Immunity, and Cancer. Sapporo. February 10, 2014.

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許出願

発明名称：腫瘍抗原ペプチド

出願番号：特願 2013-208645

出願日：平成 25 年 10 月 3 日

発明者：佐藤昇志、鳥越俊彦、廣橋良彦、金関貴幸、ビタリー コーチン

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

(資料) 第 I 相試験総括報告書

SVN-2B 第 I 相臨床試験

有効な治療のない進行消化器がん患者に対する
SVN-2B 単独投与の第 I 相臨床試験

治験総括報告書（暫定版）

試験番号：SVN2B-01

作成日：2013 年 3 月 31 日

1 標題のページ

治験の標題	有効な治療法のない進行消化器がん患者に対する SVN-2B 単独投与の第 I 相臨床試験
治験薬名	SVN-2B
対象疾患	進行消化器がん
デザイン・比較対照・目的・期間・用量・患者母集団	<p>デザイン：単施設非盲検無作為化比較試験 比較対照：なし</p> <p>目的：進行消化器がん患者を対象として SVN-2B 単独投与時の安全性を検討し、副次的に有効性として免疫学的評価、腫瘍縮小効果を検討した。</p> <p>期間：7 ヶ月間</p> <p>用量：0.3 mg 群：SVN-2B 0.3 mg/body/2 週（4 回投与） 1.0 mg 群：SVN-2B 1.0 mg /body/2 週（4 回投与） 3.0 mg 群：SVN-2B 3.0 mg/body/2 週（4 回投与）</p> <p>患者母集団：組織学的に消化器癌と確定診断された患者。</p>
自ら治験を実施する者	札幌医科大学附属病院 第 1 外科 准教授 水口 徹
治験実施計画書番号	SVN2B-01
開発のフェーズ	第 I 相
治験開始日	2012 年 8 月 30 日（最初の被験者の同意取得日）
治験の早期中止	なし
治験終了日	2013 年 5 月 30 日（最後の被験者の最終観察終了日）
治験責任医師	札幌医科大学附属病院 第 1 外科 准教授 水口 徹
治験調整事務局（責任者）	札幌医科大学 病理学第一講座 准教授 鳥越 俊彦
治験実施機関	〒 060-8543 札幌市中央区南 1 条西 16 丁目 TEL：011-611-2111（内線：3281） FAX：011-613-1678 札幌医科大学附属病院 第 1 外科
自ら治験を実施する者/担当者連絡先	札幌医科大学附属病院 第 1 外科：准教授 水口 徹 担当者連絡先： 札幌医科大学 病理学第一講座 准教授 鳥越 俊彦 〒060-8556 札幌市中央区南 1 条西 17 丁目 TEL：011-611-2111（内線：2690） FAX：011-643-2310
GCP 遵守の陳述	本治験は、ヘルシンキ宣言に基づく倫理的原則、薬事法第 14 条第 3

	<p>項及び第 80 条の 2 に規定する基準、「医薬品の臨床試験の実施の基準に関する省令」(GCP 省令)、標準業務手順書、並びに治験実施計画書を遵守して治験が実施され、治験にかかわる文書及び資料は、責任部署において適切に保管されていることを確認した。</p> <p>監査担当部門：北武臨床株式会社</p>
--	--

2. 概要

治験依頼者名： 水口 徹	各治験の要約表 申請資料中の該当箇所	(審査当局使用欄)
商品名：未定	分冊番号：	
有効成分名：SVN-2B ペプチド	ページ：	
治験の標題： 有効な治療法のない進行消化器がん患者に対する SVN-2B 単独投与の第 I 相臨床試験		
治験責任医師名：札幌医科大学附属病院 第 1 外科 准教授 水口 徹		
治験実施施設：札幌医科大学附属病院 第 1 外科		
公表文献：なし		
効果安全性評価委員会： 東京大学医科学研究所附属病院 内科 病院長 今井 浩三		
治験期間：7 ヶ月 (最初の被験者の同意取得日) 2012 年 8 月 30 日 (最後の被験者の最終観察終了日) 2013 年 5 月 30 日	開発のフェーズ： 第 I 相	
目的： 進行消化器がん患者を対象として SVN-2B 単独投与時の安全性を検討し、副次的に有効性として免疫学的評価、腫瘍縮小効果を検討した。		
治験方法： 組織学的に消化器癌と確定診断された患者で組入れ基準に合致し、除外基準に抵触しない患者を対象とした。適格性確認の翌日から患者を3群に分け、SVN-2Bをそれぞれ0.3、1.0、3.0 mg/body/2週の用量で4回皮下投与した。 主要評価項目は安全性の確認とし、有害事象、臨床検査値、バイタルサイン、体重及び12誘導心電図を治療開始前、治療開始後に観察あるいは測定した。副次評価項目は、SVN-2B ペプチド特異的 CTL 数 (テトラマー解析) 及び SVN-2B ペプチド特異的 CTL 活性 (ELISPOT 解析) に基づいた免疫学的効果及び治療開始前と 4 回目終了後の身体診察と画像診断による病巣の評価に基づいた腫瘍縮小効果とした。		
患者数 (計画時及び解析時)： 計画時：15 例 (1 群 5 例、計 3 群) 登録症例：21 例 解析時：安全性解析対象集団 (SAF)：20 例 (0.3 mg 投与群：7 例、1.0 mg 投与群：7 例、3.0 mg 投与群：6 例)、フル・アナリシス・セット (FAS)：20 例 (0.3 mg 投与群：7 例、1.0 mg 投与群：7 例、3.0 mg 投与群：6 例)、パー・プロトコル・セット PPS：15 例 (各群 5 例)		

診断及び主要な組入れ基準

- (1) 組織学的に消化器癌と確定診断された患者。
- (2) 腫瘍細胞にサバイビン蛋白質の発現が確認された患者。
- (3) 以下のいずれかの基準に該当する患者。
 - 1) 根治手術が不可能である（遠隔転移例、再発例）患者。
 - 2) 標準化学療法が確立されていない場合の初回投与例の患者。
 - 3) 標準化学療法不応例、不耐容例の患者。
- (4) 前観察期のCTまたはMRIで測定可能評価病変がある患者。
- (5) HLA遺伝子型がHLA-A*2402である患者。
- (6) $\text{Log}_{10}(1 + \text{CTL}_{\text{pre}})$ が1.6以下の患者。
CTL_{pre}：前観察期におけるSVN-2Bペプチド特異的CTL数（テトラマー解析における10,000個のCD8陽性T細胞に対するSVN-2Bテトラマー陽性CTL数）
- (7) Eastem Cooperative Oncology Group (ECOG) Performance Statusが0または1の患者。
- (8) 登録前30日以内に重篤な臓器不全がないことが確認された患者（好中球 $\geq 1,500/\mu\text{L}$ 、ヘモグロビン値 $\geq 8.0 \text{ g/dL}$ 、血小板数 $\geq 75 \times 10^3/\mu\text{L}$ 、血清クレアチニン値 \leq 正常上限値の1.5倍、血清総ビリルビン値 \leq 正常上限値、AST、ALT \leq 正常上限値の2倍）。
- (9) 同意取得時の年齢が20～85歳の患者。
- (10) 本治験内容について十分な説明を受け、本人の文書による同意が得られている患者。

除外基準

- (1) 抗生物質または抗ウイルス剤等の全身投与を要する感染症を合併している患者。
- (2) 登録前90日以内のHIV抗体検査、HBs抗原検査またはHCV抗体検査のいずれかが陽性の患者。
- (3) NYHA分類IIIまたはIVの心疾患、登録180日以内の心筋梗塞の既往、治療を要する不整脈、活動性の狭心症、または重度の閉塞性肺疾患を有するなど、本治験治療に支障を来す疾患を有する患者
- (4) コントロール不能な糖尿病または高血圧の患者。
- (5) ドレナージが必要な胸水、心嚢水または腹水を有する患者（登録時点においてドレイン抜去後14日間以上経過しており、増悪がないと判断された患者は許容する）。
- (6) 症状を伴う脳転移を有する患者。
- (7) 生命予後に影響を及ぼすような他の疾患に罹患している患者。
- (8) 経過の評価ができない患者。
- (9) 過去にSVN-2Bの投与を受けた患者。

<p>(10) 登録時に以下のいずれかの前治療または処置を行い、治療または処置の終了時から以下の期間が経過していない患者。</p> <table border="0"> <tr> <td>1) 手術療法、放射線療法</td> <td>28日間</td> </tr> <tr> <td>2) 化学療法(分子標的薬を含む)</td> <td>21日間</td> </tr> <tr> <td>3) ニトロソウレア、MMC</td> <td>42日間</td> </tr> <tr> <td>4) 内分泌療法、免疫療法 (BRM療法を含む)</td> <td>14日間</td> </tr> <tr> <td>5) 輸血、造血因子製剤</td> <td>14日間</td> </tr> <tr> <td>6) 免疫抑制剤</td> <td>28日間</td> </tr> <tr> <td>7) 他の治験薬、未承認薬</td> <td>28日間</td> </tr> </table> <p>(11) ステロイド剤の投与（経口、静注）を必要としている患者。ただし、治療に伴う急性アレルギー症状の処置用に投与した場合を除く。</p> <p>(12) 前治療で発現した副作用が、CTCAE ver.4.03に規定する重症度Grade 2以上で持続している患者。</p> <p>(13) 過去に重大な薬物アレルギーの既往がある患者。</p> <p>(14) 妊娠している、もしくは授乳中である患者。</p> <p>(15) その他、治験責任医師または治験分担医師が不適切と判定した患者。</p>		1) 手術療法、放射線療法	28日間	2) 化学療法(分子標的薬を含む)	21日間	3) ニトロソウレア、MMC	42日間	4) 内分泌療法、免疫療法 (BRM療法を含む)	14日間	5) 輸血、造血因子製剤	14日間	6) 免疫抑制剤	28日間	7) 他の治験薬、未承認薬	28日間
1) 手術療法、放射線療法	28日間														
2) 化学療法(分子標的薬を含む)	21日間														
3) ニトロソウレア、MMC	42日間														
4) 内分泌療法、免疫療法 (BRM療法を含む)	14日間														
5) 輸血、造血因子製剤	14日間														
6) 免疫抑制剤	28日間														
7) 他の治験薬、未承認薬	28日間														
<p>治験薬、用量及び投与方法、ロット番号：</p> <p>治験薬として、SVN-2B注1 mg（1バイアル中に生理食塩水1 mLあたり1.0 mgのSVN-2Bを含有する注射剤）、SVN-2B注3 mg（1バイアル中に生理食塩水1 mLあたり3.0 mgのSVN-2Bを含有する注射剤）を用いた。患者にはSVN-2Bをそれぞれ0.3、1.0、3.0 mg/body/2週の使用で4回皮下与した。</p> <p>本剤1 mLと乳化用の添加剤（Montanide ISA 51 VG）1 mLを混合して乳化調整した投与用薬液2 mLを2カ所（1カ所1 mL、計2 mL）に分けて原則14日ごとに皮下投与した。</p> <p>投与部位は限定しないが、可能な限り評価病変の所属リンパ節近傍の皮下とした。ただし、発赤や硬結の副作用が懸念されるため、前回までの投与部位反応が残存している部位を避け、患者の日常生活の妨げにならない部位を選択するものとした。</p> <p>ロット番号：SVN-2B注1 mg：1001、1001-2、1001-3 SVN-2B注3 mg：3001-1、3001-2</p>															
<p>治療期間：原則約2ヵ月間</p>															
<p>対照薬、用量及び投与方法、ロット番号：なし</p>															

<p>評価基準：</p> <p>安全性：有害事象発現率と程度、副作用発現率と程度</p> <p>有効性：免疫学的効果及び腫瘍縮小効果</p>																	
<p>解析対象集団：</p> <p>本治験において、文書による同意が取得された症例を同意取得例とし、同意取得例のうち、適格性が確認され登録された被験者を登録症例とした。登録症例のうち、治験薬が1回でも投与された被験者を投与例、治験薬がまったく投与されなかった被験者を未投与例とした。</p> <p>解析対象集団を以下のとおり定めた。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. 安全性評価に関する解析対象集団 <ol style="list-style-type: none"> (1) SAF <ul style="list-style-type: none"> 投与例から、以下に示す症例を除外した。 <ul style="list-style-type: none"> ・ 治験薬投与後の安全性評価項目がまったくない症例 ・ GCP不遵守例 2. 有効性評価に関する解析対象集団 <ol style="list-style-type: none"> (1) FAS <ul style="list-style-type: none"> 安全性評価に関する解析対象集団から、以下に示す症例を除外した。 <ul style="list-style-type: none"> ・ 治験薬投与後の有効性評価項目がまったくない症例 ・ 選択基準に合致しない症例 (2) PPS <ul style="list-style-type: none"> FASから、以下に示す症例を除外した。 <ul style="list-style-type: none"> ・ 除外基準に抵触した症例 ・ 併用禁止薬剤・療法違反の症例 ・ 服薬率が75%未満の症例 <p>評価項目と解析対象集団</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>評価項目</th> <th>主要解析対象集団</th> <th>副次評価項目解析対象集団</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>被験者の内訳</td> <td>同意取得例</td> <td>--</td> </tr> <tr> <td>被験者特有の調査項目</td> <td>FAS</td> <td>PPS、SAF</td> </tr> <tr> <td>有効性評価項目</td> <td>FAS</td> <td>PPS</td> </tr> <tr> <td>安全性評価項目</td> <td>SAF</td> <td>--</td> </tr> </tbody> </table> 			評価項目	主要解析対象集団	副次評価項目解析対象集団	被験者の内訳	同意取得例	--	被験者特有の調査項目	FAS	PPS、SAF	有効性評価項目	FAS	PPS	安全性評価項目	SAF	--
評価項目	主要解析対象集団	副次評価項目解析対象集団															
被験者の内訳	同意取得例	--															
被験者特有の調査項目	FAS	PPS、SAF															
有効性評価項目	FAS	PPS															
安全性評価項目	SAF	--															

安全性解析

割合を算出する際の分母は、特に記載のない限り、各解析対象例数より欠測値を除いた例数とした。

1. 有害事象及び副作用の有無

有害事象の有無について頻度分布を示し、発現率を示した。副作用についてもその有無についても検討し、発現率を示した。

2. 基本語別の有害事象及び副作用

器官別大分類（SOC）、基本語（PT）別の有害事象及び副作用の発現件数、発現例数及びそれらの発現例数の解析対象例数に対する割合を示した。なお一人の被験者において同一の事象（器官別大分類の集計では器官別大分類が同一の事象、基本語の集計では器官別大分類、基本語及び程度が同一の事象）が複数件発現した場合には、発現例数を1例として集計した。

3. 程度別の有害事象及び副作用

SOC、PT、程度別の有害事象及び副作用の発現件数、発現例数、及びそれらの発現例数の解析対象例数に対する割合を示した。なお一人の被験者において同一程度の事象（器官別大分類の集計では器官別大分類が同一の事象、基本語の集計では器官別大分類、基本語及び程度が同一の事象）が複数件発現した場合には、発現例数を当該程度で1例として集計した。

4. 因果関係別の有害事象

SOC、PT、因果関係別の有害事象及び副作用の発現件数、発現例数、及びそれらの発現例数の解析対象例数に対する割合を示した。なお一人の被験者において同一因果関係の事象（器官別大分類の集計では器官別大分類が同一の事象、基本語の集計では器官別大分類、基本語及び因果関係が同一の事象）が複数件発現した場合には、発現例数を当該因果関係で1例として集計した。

有効性の解析

1. 末梢血のHLA-A*2402/SVN-2B テトラマー陽性 CTL 存在頻度及び ELISPOT アッセイ陽性率を測定し、免疫学的効果の指標として評価した。

2. 腫瘍縮小効果

RECIST ガイドライン (version 1.1) に準拠し以下の判定で腫瘍縮小効果を評価した。

(1) 標的病変の評価

判定	定義
完全奏効 (Complete Response : CR)	すべての標的病変の消失。 標的病変として選択したすべてのリンパ節病変は、短径で10mm未満に縮小しなくてはならない。
部分奏効 (Partial Response : PR)	ベースライン径和に比して、標的病変の径和が30%以上減少。
進行 (Progressive Disease : PD)	経過中の最小の径和 (ベースライン径和が経過中の最小値である場合、これを最小の径和とする) に比して、標的病変の径和が20%以上増加、かつ、径和が絶対値でも5 mm以上増加。
安定 (Stable Disease : SD)	経過中の最小の径和に比して、PRに相当する縮小がなくPDに相当する増大がない。
評価不能 (Not Evaluable : NE)	ある時点で1ヵ所でも標的病変が評価されていない場合。

(2) 非標的病変の評価

判定	定義
完全奏効 (Complete Response : CR)	すべての非標的病変の消失かつ腫瘍マーカー値が基準値上限以下。 すべてのリンパ節は病的腫大とみなされないサイズ (短径が10 mm未満) とならなければならない。
非CR/ 非PD (Non-CR/Non-PD)	1つ以上の非標的病変の残存かつ/または腫瘍マーカー値が基準値上限を超える。
進行 (Progressive Disease : PD)	既存の非標的病変の明らかな増悪。
評価不能 (Not Evaluable : NE)	ある時点で少なくとも1ヵ所でも非標的病変が評価されていない場合。

(3) 新病変の評価

新病変の評価は、「なし」、「あり」の2段階で評価した。

(4) 総合効果

判定	標的病変	非標的病変	新病変
CR	CR	CR	なし
PR	CR	Non-CR/non-PD	なし
PR	CR	評価なし	なし
PR	PR	Non-PD or 評価の欠損あり	なし
SD	SD	Non-PD or 評価の欠損あり	なし
NE	評価の欠損あり	Non-PD	なし
PD	PD	問わない	あり or なし
PD	問わない	PD	あり or なし
PD	問わない	問わない	あり

要約・結論

<安全性の結果>

有害事象及び副作用発現率に関しては、各投与群間に大きな相違はなく、発現した有害事象及び副作用の内容も類似していた。発現頻度が高かった有害事象は閉塞性黄疸、十二指腸狭窄、胆管炎に伴う肝胆道系障害、体重減少、腹痛及び発熱であった。重篤な有害事象は10例12件（0.3 mg群：3例3件、1.0 mg群：4例5件、3.0 mg群：3例4件）認められたが、いずれもSVN-2Bとの因果関係は否定されていた。因果関係があると判断された副作用は4例6件（皮膚硬結、注入に伴う反応、注射部位の血管外漏出、発熱）であったが、いずれも軽度であったことから、がんワクチン製剤としていずれの群も十分な安全性を有していると考えられた。

<有効性の結果>

本治験では、副次的に免疫学的評価、腫瘍縮小効果を有効性として検討した。免疫学的評価は、いずれの群でもペプチド特異的 CTL 数の増加が認められ、1.0 mg 群が最も高い平均値を示した。腫瘍縮小効果については、15 例中 8 例（53.3%）で腫瘍の増大を抑制する効果が確認された。

<結論>

SVN-2B は、がんワクチン製剤としていずれの群も十分な安全性を有していると考えられた。また、投与後に免疫の活性力を示す SVN-2B ペプチド特異的 CTL 数（テトラマー解析）の上昇がいずれの群でも認められたが、1.0 mg 群が最も高く、至適用量と推定された。