

D. 考察

一次同意取得後、二次同意に至らなかった理由として、術前化学療法でリンパ節転移が消失した例、逆に鎖骨上窩リンパ節転移（食道癌取扱い規約では遠隔転移ではなく外科切除の対象であるが、本治験で採用したTNM分類では遠隔転移と診断され、治験対象外となる）が判明した例、がん抗原発現が認めなかった例が存在した。外科手術まで治療がすすんだ後に患者が途中で治験参加を拒否した症例はなく、むしろ治験参加を強く希望する症例が多数であるため、二次登録に至る割合が低いのが残念である。

E. 結論

医師主導治験が実施承認され、患者登録と治験遂行を継続中である。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Gunji S, Ueda S, Yoshida M, Kanai M, Terajima H, Takabayashi A.

Effects of rikkunshito, a kampo medicine, on quality of life after proximal gastrectomy.

J Surg Res. 2013 Dec;185(2):575-80.

2) Kageyama S, Wada H, Muro K, Niwa Y, Ueda S, Miyata H, Takiguchi S, Sugino SH, Miyahara Y, Ikeda H, Imai N, Sato E, Yamada T, Osako M, Ohnishi M, Harada N, Hishida T, Doki Y, Shiku H.

Dose-dependent effects of NY-ESO-1 protein vaccine complexed with

cholesteryl pullulan (CHP-NY-ESO-1) on immune responses and survival benefits of esophageal cancer patients.

J Transl Med. 2013 Oct 5;11:246.

3) Hirayama M, Nishikawa H, Nagata Y, Tsuji T, Kato T, Kageyama S, Ueda S, Sugiyama D, Hori S, Sakaguchi S, Ritter G, Old LJ, Gnjjatic S, Shiku H.

Overcoming regulatory T-cell suppression by a lyophilized preparation of *Streptococcus pyogenes*.

Eur J Immunol. 2013 Apr;43(4):989-1000.

2. 学会発表

1) 上田修吾

進行・再発食道癌に対する CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法臨床試験

第67回日本食道学会学術総会、大阪、2013年

2) 上田修吾、影山慎一、宮原慶裕、珠玖 洋
進行・再発固形癌に対する CHP-MAGE-A4 がんワクチン療法第I相臨床試験

第72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年

3) 影山慎一、池田裕明、今井奈緒子、上田修吾、石川 剛、直田浩明、宮原慶裕、吉岡広文、戸村大助、糠谷育衛、峰野純一、片山直之、珠玖 洋

MAGE-A4 発現食道癌における抗原特異的 TCR 遺伝子導入リンパ球輸注後の in vivo 血中持続

第72回日本癌学会学術総会、横浜、2013年

4) 杉野早穂子、宮原慶裕、上田修吾、石川 剛、古倉 聡、池田裕明、影山慎一、糠谷育衛、戸村大助、吉岡広文、峰野純一、

珠玖 洋

MAGE-A4 特異的 T 細胞発現受容体を用いた
遺伝子免疫治療における免疫モニタリング
第 72 回日本癌学会学術総会、横浜、2013 年

2. 実用新案登録

なし.

3. その他

なし.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし.

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))
分担研究報告書

「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした
多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」に関する研究

研究分担者 永田 康浩 国立病院機構長崎医療センター 外科医長

研究要旨: 食道癌根治術後の患者に対してIMF-001の反復皮下投与を行い、無病生存期間及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施する。

A. 研究目的

根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、無病生存期間及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を副次評価項目とする。

B. 研究方法

食道癌根治術後の NY-ESO-1 抗原発現陽性症例に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、IMF-001 非投与群を対照として、無病生存期間 (DFS) 及び安全性、さらに NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を多施設共同無作為化比較試験として実施する。

(倫理面への配慮)

本治験はヘルシンキ宣言の精神を遵守し、かつ本治験実施計画書、薬事法第14条第3項及

び第80条の2に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令 (GCP)」を遵守し実施する。

C. 研究結果

試験の適格基準に基づき一次登録を8名に行った。そのうち二次登録の適格基準を満たした2名について、本試験を行っている。この2名についてはこれまでのところ有害事象は認められず試験継続中である。NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果については検討中である。

D. 考察

本試験を遂行する上でプロトコール上の支障は認められなかった。

E. 結論

次年度以降の症例の集積が望まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Overcoming regulatory T-cell suppression by a lyophilized preparation of Streptococcus pyogenes. Hirayama M, Nishikawa H, Nagata Y, Tsuji T, Kato T, Kageyama S, Ueda S, Sugiyama D, Hori S, Sakaguchi S, Ritter G, Old LJ, Gnjatich S, Shiku H.

Eur J Immunol. 2013 Feb 22

2. 学会発表

1) 当院鏡視下食道癌手術における開胸移行例の検討

永田康浩、平山昂仙、土肥良一郎*、渡海由貴子、野中 隆、徳永隆幸、遠山啓亮、北島知夫、原口正史、蒲原行雄、前田茂人、田川 努*、藤岡ひかる

第67回日本食道学会総会、2013. 6. 13-14、大阪

2) 咽頭・喉頭・食道切除後の挙上胃管・遊離空腸・咽頭吻合による再建

永田康浩、平山昂仙、土肥良一郎*、渡海由貴子、野中 隆、徳永隆幸、遠山啓亮、北島知夫、原口正史、蒲原行雄、前田茂人、田川 努*、藤岡ひかる

第68回日本消化器外科学会総会、2013. 7. 18-20、宮崎

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし.

2. 実用新案登録

なし.

3. その他

なし.

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))
分担研究報告書

「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした
多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」に関する研究

研究分担者 金高 賢悟 長崎大学移植・消化器外科 講師

研究要旨： IMF-001 は非臨床試験の成績より安全性に特に問題点は認められず、また臨床第Ⅰ相試験の成績より食道癌症例に安全で免疫反応が誘導され臨床上有効である可能性が示唆された。今回再発のリスクが非常に高い一方で標的腫瘍細胞量が最少でありがんワクチン免疫療法による抗腫瘍免疫が特に期待できると考えられる根治術後の食道癌症例を対象とした IMF-001 反復投与による安全性を検討するための第Ⅱ相臨床試験である。

A. 研究目的

根治術後の食道癌に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い無病生存期間及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導及び全生存期間を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施する。

B. 研究方法

(1) IMF-001 投与群

IMF-001 200 μ g を 2 週毎の皮下投与を 6 回行い、その後 4 週毎の皮下投与を 9 回行う。最終症例が二次登録されてから 2 年間までを追跡期間とし、所定の項目について観察・検査する。

(2) IMF-001 非投与群

治験薬の投与は行わない。IMF-001 投与群の

最終症例の 107 週時点までを追跡期間とし、所定の項目について観察・検査する。

(倫理面への配慮)

対象となる被験者本人に治験審査委員会で承認を得た内容について記載された説明文書を手渡し、十分に説明し、被験者が内容をよく理解したことを確認した上で、本治験への参加について被験者本人の自由意思による同意を文書にて得る。

C. 研究結果

適応症例に関してはすべて一次登録への登録を行っており現在まで 3 症例の登録を行ったが、3 症例とも 2 次登録への適格症例ではなかったため 2 次登録には至らなかった。1 例目はリンパ節転移陰性であり、あとの 2 例は抗原が陰性であった。

D. 考察

一次登録に関しては適格症例はすべてご協力いただいている状況である。ESDによる治療が困難な早期症例が多く、一次登録数が伸びない状況である。抗原陰性例も多く現在のところ二次登録に至っていない。

E. 結論

まずは一次登録の適格症例を増加させて二次登録数増加を図る。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし.
2. 学会発表
なし.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得
なし.
2. 実用新案登録
なし.
3. その他
なし.

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))
分担研究報告書

根治切除術後食道癌の NY-ESO-1 抗原発現陽性例に対する
IMF-001 の多施設共同無作為化比較試験

研究分担者 五島 直樹、(独) 産業技術総合研究所、主任研究員

研究要旨： 転移・再発固形腫瘍例に対する化学療法を始めとする薬物治療の限界を改善するため、宿主の免疫反応を利用する免疫的治療が注目されている。近年、T リンパ球に認識される腫瘍抗原が多数同定されてきているが、これら同定抗原を免疫原とする「がんワクチン」が有望な特異的がん免疫療法の一つとして期待されている。これまでにがんワクチン投与後に抗原特異的免疫反応が患者体内で誘導され、また低頻度ながら腫瘍縮小反応がみられることが挙げられる。がんワクチン投与後の免疫反応として、免疫原に対する抗体産生だけでなく種々の抗体産生が誘導されることが報告されている。本研究では、がんワクチン投与後に生じる体内での免疫反応を独自開発のプロテインアレイを用いてプロファイリングし、対象群と比較することによって治験研究の補助的データとする。

A. 研究目的

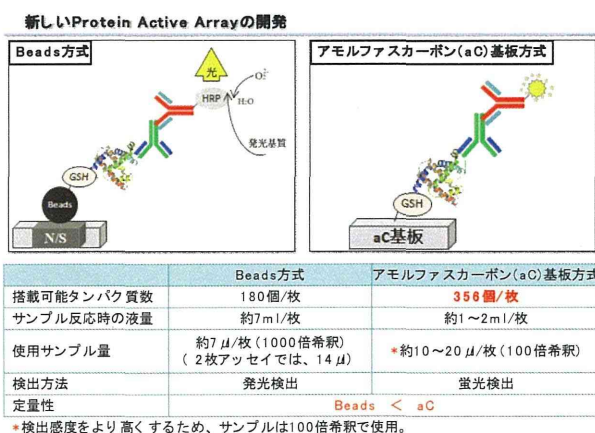
根治切除術後食道癌患者に対するがんワクチン (NY-ESO-1) 投与前、投与後の免疫応答の変化を、血清中の抗体の変化として捉え、経時的に抗体プロファイリングを行う。がんワクチンが直接的に誘導する抗体および細胞破壊による抗原拡散によって二次的に誘導される抗体をプロテインアレイを用いてプロファイリングし、がんワクチンの治療効果と関連付けることによって治験研究の補助的データとする。

B. 研究方法

我々がヒト完全長 cDNA ライブラリーか

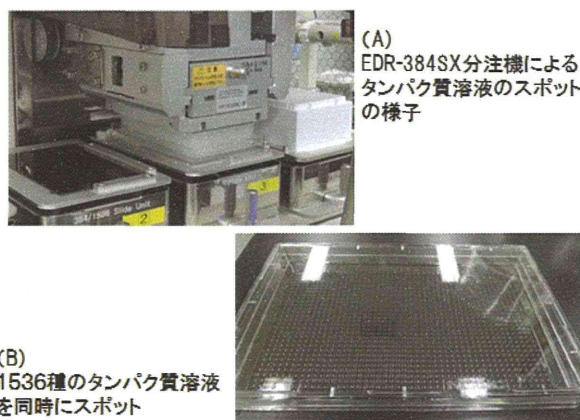
ら開発した世界最大のヒトタンパク質発現リソース (HuPEX) より CTDatabase (<http://www.cta.lncc.br/>) に登録されている cancer /testis antigen (CTA: 癌と精巣のみに発現する遺伝子群) の 282 種を選択し、コムギ無細胞タンパク質合成系でタンパク質合成する。タンパク質のアレイ化は、従来の Beads 方式から変更して新規開発のアモルファスカーボン (aC) 基板方式によって行った (図 1 参照)。

図 1



どちらのアレイ化方法も、タンパク質の高級構造を維持し、ネイティブなタンパク質を基板上に整列化する我々オリジナルのものである。新規開発の aC 基板方式は自己抗体検出の再現性が高く、スポットの高密度化も行いやすい特徴を有する。バイオテック社の EDR-384SX 分注機を利用し、独自開発のプロトコールにより aC 基板上に 384~1536 スポットを 1 ショットでタンパク質をアレイ化できる (図 2 参照)。

図 2



プロテインアレイの評価として、傍腫瘍性神経疾患患者の血清をテストサンプルとして使用し、血清中に含まれている自己抗体の解析結果を指標に行う ((独) 産業技術総合研究所の倫理委員会で承認を得てい

る。)

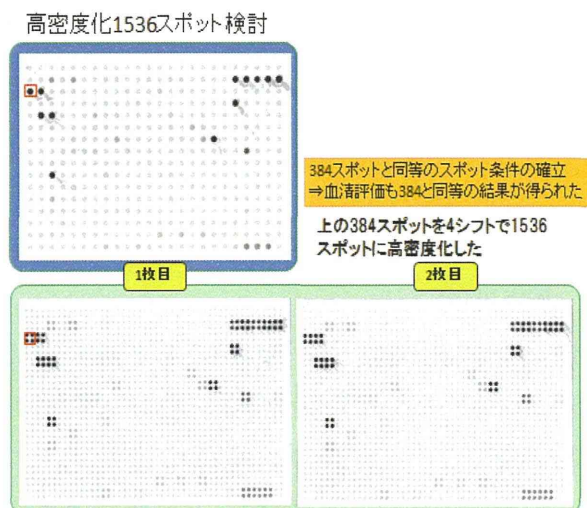
(倫理面への配慮)

(独) 産業技術総合研究所のヒト由来資料実験申請書を提出し、倫理委員会で承認を得ている。また、医師主導治験におけるプロテインアレイ測定機関に対する治験前監査を実施した。治験における検査実施に必要な組織や手順書等は整備されていることを確認した。

C. 研究結果

傍腫瘍性神経疾患患者の血清 (40 μL) を使用し、血清中の自己抗体のプロファイリングを、aC 基板方式のプロテインアレイを使用して行った (図 3 参照)。

図 3



aC 基板方式のアレイは、384 スポットと比較して 1536 スポットのアレイにおいても全く同じ抗体シグナルパターンを検出した。また、複数のアレイを作製し、その抗体シグナルパターンの再現性を検討し、非常に良い再現性を示した。さらにハイスループットな抗体プロファイリングが可能であることを確認した。

D. 考察

従来法の Beads 方式よりも aC 基板方式の
プロテインアレイのほうが血清中の抗体シ
グナルを検出する上で、非常に再現性が高
いことが明らかになった。また、Beads 方式
(7mL) よりも aC 基板方式 (40 μ L) の方が
少量のプロブ溶液量で反応させることが
でき、高濃度の血清溶液で反応させること
が可能である。さらに aC 基板方式は基板の
カーボン素材の特徴により自家蛍光がほと
んどなく、蛍光検出において高感度検出が
可能であり、測定の定量性も非常に良い。

E. 結論

疾患患者の血清中の自己抗体プロファイ
リングを行う方法として、タンパク質スポ
ットの高密度化のしやすさ、高感度の抗体
検出において aC 基板方式が有効である。ま
た、図 3 の結果で分かるように aC 基板方式
では弱いシグナルの検出の再現性も非常に
高い結果を示した。したがって、本治験で
の血清中の自己抗体プロファイリングには
aC 基板方式が適していると考えられる。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Tadashi Yamamoto, Keiichi Nakayama,
Hisashi Hirano, Takeshi Tomonaga,
Yasushi Ishihama, Tetsushi Yamada,
Tadashi Kondo, Yoshio Kodera, Yuichi Sato,
Norie Araki, Hiroshi Mamitsuka, and **Naoki
Goshima**: Integrated View of the Human
Chromosome X-centric Proteome Project. *J.
Proteome Res.*, 12, 58-61, (2013)

- 2) Atsuhiko Ishida, Kumiko Tsumura, Megu
Oue, Yasuhiro Takenaka, Yasushi Shigeri,
Naoki Goshima, Yasuhiro Ishihara, Tetsuo
Hirano, Hiromi Baba, Noriyuki Sueyoshi,
Isamu Kameshita and Takeshi Yamazaki.
"An active C-terminally truncated form
of Ca²⁺/calmodulin-dependent protein
kinase phosphatase-N (CaMKP-N/PPM1E),
BioMed Research International, vol. 2013,
doi:10.1155/2013/134813. (2013.)

- 3) Keisuke Okita, Tatsuya Yamakawa, Yasuko
Matsumura, Yoshiko Sato, Naoki Amano,
Akira Watanabe, Naoki Goshima, and
Shinya Yamanaka : An Efficient
Non-viral Method to Generate
Integration-Free Human iPS Cells from
Cord Blood and Peripheral Blood
Cells. *Stem Cells*, 31(3), 458-66 (2013)

- 4) Takashi Yugawa, Koichiro Nishino,
Shin-ichi Ohno, Tomomi Nakahara,
Masatoshi Fujita, Naoki Goshima, Akihiro
Umezawa and Tohru Kiyono: Non-canonical
NOTCH signaling limits self-renewal of
human epithelial and iPS cells through
ROCK activation. *Mol Cell Biol.* 33
(22) , 4434 - 4447 (2013)

2. 学会発表

- N. Goshima & E. Fukuda: Construction of
human proteome expression resource
(HuPEX) and its applications. The 4th
Symposium on Computational, Systems and
Synthetic Biology (TriSys), 7-9 November,
2013, Hong Kong Baptist University, Hong
Kong

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許公開

出願番号：PCT/JP2012/080133

WO/2013/574894

発明の名称：プロテインタグ、タグ化タンパク及びタンパク精製方法

発明者：五島直樹、森正敏、福田枝里子

2. 実用新案登録

なし.

3. その他

なし.

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))
分担研究報告書

臨床試験での抗原発現判定の実施, および結果の再検討

研究分担者 佐藤 永一 東京医科大学 医学総合研究所 病理・画像部門 准教授

研究要旨: CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」での NY-ESO-1 発現解析を行った。多施設共同研究であるが、施設間での発現率に明らかな差異はなかった。ただし背景染色や切片の剥離が特定の施設に集積する傾向があり、何らかの標本作製過程の差が影響を与えているものと考えられた。現行の染色プロトコールは適切なものと考えられるが、今後も検証を継続する必要がある。また in situ hybridization 等、免疫組織化学以外の手法を用いて、抗原発現判定の信頼性を担保することも望まれる。

A. 研究目的

この分担研究の目的は下記の2項である。

(1) 「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」で、候補患者の食道癌切除検体を用いた免疫組織化学を行い、腫瘍細胞による NY-ESO-1 発現の有無を判定すること。

(2) (1)で行った免疫組織化学での染色性を確認し、標準プロトコールでの染色に不安定性がみられた場合、対処法を検討すること。

B. 研究方法

「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」の各参加施設で、

「NY-ESO-1 抗原発現の判定に係る手順書」に従って作製された組織標本を、「免疫組織化学による NY-ESO-1 蛋白検出標準操作手順書」に従って染色を行った。判定は同標準操作手順書に規定された判定基準に準じて行った。

腫瘍細胞での発現判定とは別途に、各参加施設毎の陽性率、陽性強度の頻度を算定して評価し、背景染色の有無と切片剥離の有無を合わせて、染色不安定性の評価項目として観察した。

(倫理面への配慮)

本分担研究で用いた組織標本は臨床試験の検体管理期間で匿名化されており、分担研究者は患者情報を参照することができない。また本研究では組織標本のみを観察対象としており、患者情報は利用していない。

C. 研究結果

72 例の候補患者について、食道癌の手術切除検体を用いて、免疫組織化学を行った。初回提出時の検体に癌細胞が含まれず、不適當標本とした症例が 1 例含まれたが、再提出された検体で癌細胞が確認され、全例の判定が完遂できた。なお、判定は 2 名の病理医で行ったが、不一致例はなかった。

判定結果の内訳は下記の通りであった。陰性 46 例 (63%)、陽性 26 例 (36%) [うち限局的陽性 13 例 (18%)、陽性率 5-25% 6 例 (8%)、陽性率 25-50% 2 例 (3%)、陽性率 50-75% 2 例 (3%)、陽性率 75% 以上 3 例 (4%)].

施設別の陽性率では、0 ないし 80% と著しい差異が認められた。ただし陽性率が 0% の施設、あるいは 50% を超える施設は、抗原発現判定を行った症例が 5 例未満の施設に限られていた。他の施設では 7 例以上の症例について判定が実施されており、陽性率は 33% ないし 42% と、全体での平均陽性率と明らかな差異は認められなかった。

背景染色と切片剥離については、両現象が重複して生じることが多く、特定の参加施設から提出された検体に集積する傾向があった。癌細胞に強い背景染色を伴う症例も見受けられたが、NY-ESO-1 陽性細胞との対比は良好であり、背景染色や切片の剥離が判定に悪影響を与えた例はなかった。

D. 考察

本分担研究で行った、免疫組織化学による NY-ESO-1 発現判定では、多施設から提出された検体を用いている。各施設では手術

切除検体のホルマリン固定・パラフィン包埋標本を作製する過程が厳密に一定したのではなく、染色結果に悪影響を与える可能性が想定されていた。

実際に標準プロトコールに従った染色では、特定の施設で作製された組織標本に、その要因を特定するには至らなかったものの、標本作製過程に原因があると推測される、強い背景染色や切片の剥離が認められた。ただし、組織標本の状態不良による判定不能例はなく、免疫組織化学については、現行の標準プロトコールを用いることで支障ないものと考えられた。

検体の摘出から固定までの時間、固定液の調製法、固定時間、固定温度等は、免疫組織化学の染色性に強い影響を与える因子であることは知られており、特に偽陰性の検証が現状では不可能である。

本治療法の実用化を想定し、抗原発現判定の信頼性を担保するため、in situ hybridization (ISH) などの他の手法を合わせた包括的な組織化学による NY-ESO-1 発現解析を行うことが必要と考えられる。現在オリゴ DNA プローブを用いた ISH、および tissue microdissection を利用した定量的 PCR を行い、免疫組織化学の結果との比較を進めている。

E. 結論

現行の標準プロトコールによる免疫組織化学は、多施設共同臨床試験での利用に適していると考えられた。ただし同様の検証は継続する必要がある、さらに mRNA 発現を合わせた包括的な抗原発現解析の開発も望

まれる。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

なし。

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

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))
分担研究報告書

「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした
多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」に関する研究

研究分担者 毛利 靖彦 三重大学医学部附属病院 消化管外科 准教授

研究要旨：根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行ない、無病生存期間および安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施する。

A. 研究目的

根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、無病生存期間及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施する。

B. 研究方法

根治術後の NY-ESO-1 抗原発現陽性症例に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、IMF-001 非投与群を対照として、無病生存期間 (DFS) 及び安全性、さらに NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間を多施設共同無作為化比較試験として実施する。

(倫理面への配慮)

本治験はヘルシンキ宣言の精神を遵守し、かつ本治験実施計画書、薬事法第 14 条第 3

項及び第 80 条の 2 に規定する基準及び「医薬品の臨床試験実施の基準に関する省令 (GCP)」を遵守し実施する。

C. 研究結果

今年度は、適応となる食道癌 3 症例に対し、術前治療および手術を施行し、一次登録した。

D. 考察

4 症例を登録し、そのうち 1 例が NY-ESO-1 抗原陽性で二次登録に至った。

E. 結論

今後も症例集積に努める。

F. 研究発表

1. 論文発表

なし。

2. 学会発表

1) 毛利 靖彦, 田中 光司, 大井 正貴, 安田

- 裕美, 石野 義人, 三枝 晋, 北嶋 貴仁, G. 知的所有権の出願・取得状況
- 沖上 正人, 楠 正人「食道癌原発巣における術前化学放射線療法と術前化学療法による抗腫瘍効果の検討」 第67回日本食道学会学術集会
- 2) 大井 正貴(三重大学 先端的外科技術開発学), 今岡 裕基, 安田 裕美, 石野 義人, 三枝 晋, 田中 光司, 毛利 靖彦, 楠 正人「食道癌に対する術前化学療法後の胸腔鏡下食道切除術の検討」 第67回日本食道学会学術集会
1. 特許取得 なし.
2. 実用新案登録 なし.
3. その他 なし.

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))
分担研究報告書

がんワクチン開発における統計学的手法に関する研究

研究分担者 山田知美 大阪大学大学院医学系研究科 寄附講座 准教授

研究要旨：がんワクチンの効果を正しく評価するためには、試験デザインの工夫と臨床的効果観察の遅延を考慮した統計解析手法を確立する必要がある。がんワクチン開発における試験デザインのレビューを行い、解析手法については理論およびシミュレーションの両面から検討を行った。

A. 研究目的

本研究の目的は、がんワクチンの効果を正しく検証するための統計学的問題点を解決することである。

がんワクチンはその作用機序から、再発や生命予後に関して抗がん剤同様の解析手法を用いることはできず、がんワクチン開発に適した統計解析手法を確立する必要がある。

B. 研究方法

がんワクチンの臨床試験について文献レビューを行い、統計学的問題点の整理と対応策の検討を行う。また、比例ハザード性が成り立たない場合の統計モデルの改良案として、今年度は特にHarrington-Fleming法に注目する。第I相試験で集積したデータをもとに発生させた仮想データを用いてシミュレーションを行い、Harrington-Fleming法の重みの決定方法を探索する。

「根治切除術後食道癌のNY-ESO-1抗原発現陽性例に対するIMF-001の多施設共同無作為

化比較試験(第II相臨床試験)」ではSimonの選択デザインを採用したので、改良モデルは主解析には用いないが、データ固定前までに最適なモデルを決定する。

(倫理面への配慮)

第I相試験のデータを用いるが、データに個人情報に含まれない。

C. 研究結果

臨床的効果観察の遅延を考慮した統計解析手法としては、①免疫応答作動までの時間を境とした2段階モデル、②Harrington-Fleming法、③ランドマーク解析、④Boagモデル等の適用可能性が考えられる。

Harrington-Fleming法のシミュレーション研究の結果、免疫応答作動までの時間と重みの関係性についての傾向は掴めた。

D. 考察

今年度はHarrington-Fleming法の検討を中心にを行い、この手法の適用可能性を示唆する

結果は得られたが、重みの決定方法や適用の妥当性については更なる検討が必要である。今後は候補に挙げた他の解析手法についても検討を深め、各手法の比較を行いながら最適な手法を探索する。

E. 結論

がんワクチンの開発を成功に導くための試験デザインの検討と、がんワクチンの効果を正しく評価するための統計手法についての検討を、理論とシミュレーションの両面から行った。

F. 研究発表

1. 論文発表

1) Kageyama S, Wada H, Muro K, Niwa Y, Ueda S, Miyata H, Takiguchi S, Sugino H S, Miyahara Y, Ikeda H, Imai N, Sato E, Yamada T, Osako M, Ohnishi M, Harada N, Hishida T, Doki Y and Shiku H:

Dose-dependent effects of NY-ESO-1 protein vaccine complexed with cholesteryl pullulan (CHP-NY-ESO-1) on immune responses and survival benefits of esophageal cancer patients. *Journal of Translational Medicine* 11 (246), 2013.

2. 学会発表

なし.

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし.

2. 実用新案登録

なし.

3. その他

IMF-001 医師主導治験 平成 25 年度第 1 回 班会議にて発表: 山田知美, がん免疫療法における統計学的手法について, 名古屋, 2013.

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))
分担研究報告書

「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした
多施設共同前期第Ⅱ相臨床試験」に関する研究

研究分担者 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

研究要旨：根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、無病生存期間 (disease free survival : DFS) 及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間 (overall survival : OS) を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を計画し、研究を継続している。平成 24 年 6 月より登録が開始され、目標症例数は 70 例 (IMF-001 投与群 35 例、非投与群 35 例) である。本試験は候補患者に対して術前化学療法の実施前に試験の参加に対する一次同意を取得し、根治切除後に選択基準に合致し除外基準に抵触しないことを確認した上で二次同意を取得、試験に登録、IMF-001 投与群と非投与群のいずれかに割り当てられる。平成 26 年 1 月 31 日現在、全施設で 16 例の新規症例登録 (一次同意 128 例) があり、当院からは 1 例 (一次同意 22 例) が登録された。

A. 研究目的

根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、無病生存期間 (disease free survival : DFS) 及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間 (overall survival : OS) を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施する。

共通プロトコールでの症例集積および試験治療を実施している。

(倫理面への配慮)

本試験は、ヘルシンキ宣言に則った試験実施計画書に基づいて計画され、参加全施設の倫理審査の承認と患者本人からの文書で同意を得てから登録を行う。また、個人情報等の保護も十分に配慮して試験を遂行する。

B. 研究方法

多施設共同研究としてプロトコール作成、

C. 研究結果

本試験は、平成 24 年 6 月より登録が開始。

平成 26 年 1 月 31 日現在、全施設で 16 例の新規症例登録（一次同意 128 例）があり、当院からは 1 例（一次同意 22 例）が登録された。

当院で一次同意が得られた 22 例中、根治切除が終了し、二次同意登録の判断可能な症例は 19 例であり、16 例は選択基準が合致せず、1 例は遠方のため二次同意が得られず、2 例に二次同意が得られ登録された。うち 1 例は後日同意撤回された。

これまでのところ当院から登録された症例および全症例で重篤な有害事象は見られていない。

D. 考察

再発のリスクが高い根治術後の食道癌症例に対して IMF-001 の反復投与による有効性及び安全性が評価されれば、食道癌の治療成績の向上をもたされることが期待される。

E. 結論

根治術後の食道癌患者に対して IMF-001 の反復皮下投与を行い、無病生存期間（disease free survival : DFS）及び安全性を探索的に検討することを主要評価項目として、NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応誘導効果及び全生存期間（overall survival : OS）を副次評価項目として多施設共同無作為化比較試験を実施しており、平成 26 年 1 月 31 日までに 16 例が登録された。目標症例数の達成まで試験を継続する。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Kaneko K, Yano T, Minashi K, Kojima T, Ito M, Satake H, Yajima Y, Yoda Y, Ikematsu H, Oono Y, Hayashi R, Onozawa M, Ohtsu A. Treatment strategy for superficial pharyngeal squamous cell carcinoma synchronously combined with esophageal cancer. *Oncology*. 2013;84(1):57-64

2. 学会発表

- 1) 青柳一彦，三梨桂子，小島隆嗣，矢野友規，西村公男，玉置将司，小松崎理絵，大津敦，吉田輝彦，山田康秀，武藤学，佐々木博己 食道がん治療前生検の遺伝子発現プロファイル用いた教師無しサブタイプ分類による化学放射線療法感受性予測 第72回日本癌学会学術集会 2013年。
- 2) 鳩貝健，小島隆嗣，大幸宏幸，大瀬良省三，藤井誠志，設楽紘平，布施望，吉野孝之，土井俊彦，大津敦 臨床病期Ⅱ-Ⅲ期 食道扁平上皮癌に対する術前 DCF 療法の短期成績の検討第 11 回日本臨床腫瘍学会学術集会 2013 年。

G. 知的所有権の出願・取得状況

1. 特許取得

なし。

2. 実用新案登録

なし。

3. その他

なし。

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))
分担研究報告書

食道癌患者における血清抗 NY-ESO-1 抗体の解析

研究分担者 島田 英昭 東邦大学医学部外科学講座 一般・消化器外科学分野 教授

研究要旨：NY-ESO-1 は、食道癌から同定された抗原であり、ワクチン治療用ペプチドとして臨床試験が行われている。我々は、Serological identification of antigens by recombinant cDNA expression libraries (SEREX) 抗原を標的とした ELISA 測定系により、食道癌患者血清中の SEREX 抗体を検索している。今回 NY-ESO-1 抗原に対する血清中の抗 NY-ESO-1 抗体の陽性率について検討したので報告する。[対象と方法] 精製した NY-ESO-1 組み換えタンパクを標的抗原とする ELISA 測定系を作成した。健常者 74 例の血清中の抗 NY-ESO-1 抗体価を測定して、その平均値+3SD を基準値として、基準値を超える抗体価を陽性と判定した。食道癌症例 176 例を含む 813 例の消化管癌症例を対象として血清中の抗 NY-ESO-1 抗体価を ELISA 法にて測定した。[結果と考察] 食道癌における血清 IgG 抗体陽性率を検討した。胃癌における既存の腫瘍マーカーの陽性率について解析した。食道扁平上皮癌症例における陽性率は 31% であり、胃癌では 10%、大腸癌では 8% であった。健常者においては基準値を超える陽性者はいなかった。健常者と比較して有意に高い傾向を認めたことから食道癌の診断に有用と考えられた。

A. 研究目的

NY-ESO-1 抗原は食道癌抗原として同定されたが、食道癌以外の固形癌でも発現異常が報告されている。一部の癌患者では、血清中に抗 NY-ESO-1 抗体が出現するが、日本人における解析はあまり報告されていない。本研究では血清 NY-ESO-1 抗体を検出する手法を確立し、食道・胃・大腸癌症例における血清抗体陽性率を検討した。

B. 研究方法

RT-PCR により全長 human NY-ESO-1 遺伝子を増幅し、pGEX ベクターの BamHI-XhoI 部位へ挿入した。シーケンスを確認した後、この発現ベクターを大腸菌へ形質転換して発現させた。精製した NY-ESO-1 組み換えタンパクを標的抗原とする独自開発の ELISA 測定系を確立した。健常者 74 例の血清中の抗 NY-ESO-1 抗体価の平均値+3SD を基準値として基準値を超える抗体価を陽性と判定した。消化管癌症例血清 813 例(食道扁平上皮癌:176 例、胃癌:348 例、大腸癌:289 例)を