

図2 GPC3 ペプチドワクチン臨床試験における免疫モニタリング

A) CTL 側の評価. 末梢血中の GPC3 ペプチド特異的な CTL が、ワクチン投与後に増加することを IFN- $\gamma$  ELISPOT assay および GPC3-Dextramer assay で示した. また組織中の CD8<sup>+</sup>リンパ球や GPC3 ペプチド特異的 CTL についても評価を行っている. B) がん細胞側の抗原発現の評価. MHC class I と抗原タンパク質を免疫組織学的解析で評価する他に、MHC class I とペプチド複合体の密度の評価も必要と考えられる (A, B ともに文献 11 より改変して転載)

発現の有無、抗原陽性患者数、エピトープ数、抗原発現部位の 9 項目を用いて評価することを試みている<sup>10)</sup>. 報告された 2009 年の時点では、75 個の抗原のうち、臨床試験での免疫原性の評価は 46 個の抗原にしか行われていなかったが、現在も多く腫瘍抗原を用いた臨床試験が行われており、今後の解析が期待される.

#### 4 抗原特異的免疫療法の免疫学的評価法

抗原特異的免疫療法の臨床試験では、CTL 側の評価、がん細胞側の抗原発現の評価が、ともに重要と考えられる. われわれが行ってきた進行肝細胞がん患者を対象とした GPC3 ペプチドワクチン療法臨床試験で

の免疫モニタリングを例として示す (図2A)<sup>11)</sup>。CTL側の評価として、GPC3ペプチドワクチン投与中は2週間ごとに末梢血単核球を採取している。末梢血単核球中の*ex vivo* IFN- $\gamma$  ELISPOT (enzyme-linked immunospot) assayとマルチマーを使用したフローサイトメーターの解析 (GPC3-Dextramer assay) によりGPC3ペプチド特異的CTLの頻度をモニタリングしている。さらにGPC3ペプチド特異的CTLを単離して、多数のGPC3ペプチド特異的CTLクローンを樹立して解析している<sup>12)</sup>。また生検による組織学的解析を行い、ワクチン投与後にCD8<sup>+</sup>細胞が、がん組織内に浸潤する症例を確認している。現在ではGPC3-Dextramer assayで、腫瘍浸潤リンパ球中のGPC3ペプチド特異的CTLの検出とそのクローン化にも成功している。このようにわれわれは、末梢血中および腫瘍内に浸潤するGPC3ペプチド特異的CTLの頻度、質ともに可能な限り評価し、その臨床効果との相関性を示してきた。

がん細胞側の抗原発現の評価として、免疫組織学的評価で、HLA class I、抗原GPC3の発現の評価を行っている (図2B)。またがん細胞上のMHC class Iと抗原ペプチド複合体の密度の評価も試みているが、今のところ難しい。しかし、がん細胞上のMHC class Iと抗原ペプチド複合体の密度は、抗原特異的免疫療法の治療効果のバイオマーカーとして期待できるのではないかと考えている。

## おわりに

腫瘍抗原の同定法、腫瘍抗原の分類、理想的な腫瘍抗原について概説し、腫瘍抗原を用いた臨床試験における免疫学的評価法についても触れた。

これまでにも多くの腫瘍抗原が同定されてきたが、

さらに有望な腫瘍抗原およびエピトープペプチドの探索は、がん免疫療法の開発において欠かすことのできない柱の1つであり、今後も新たな腫瘍抗原を同定する研究は必要と思われる。

## 文献

- 1) van der Bruggen, P. et al. : Science, 254 : 1643-1647, 1991
- 2) Kawakami, Y. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91 : 3515-3519, 1994
- 3) Walter, S. et al. : Nat. Med., 18 : 1254-1261, 2012
- 4) Sahin, U. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 92 : 11810-11813, 1995
- 5) Chen, Y. T. et al. : Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 94 : 1914-1918, 1997
- 6) Schwartzenuber, D. J. et al. : N. Engl. J. Med., 364 : 2119-2127, 2011
- 7) Rosenberg, S. A. & Dudley, M. E. : Curr. Opin. Immunol., 21 : 233-240, 2009
- 8) Heemskerk, B. et al. : EMBO J., 32 : 194-203, 2013
- 9) Warren, R. L. & Holt, R. A. : Human Immunology, 71 : 245-254, 2010
- 10) Cheever MA, et al : Clin. Cancer Res., 15 : 5323-5337, 2009
- 11) Sawada, Y. et al. : Clin. Cancer Res., 18 : 3686-3696, 2012
- 12) Yoshikawa, T. et al. : Cancer Sci., 102 : 918-925, 2011

### <筆頭著者プロフィール>

澤田 雄：2005年、山形大学医学部卒業後、横浜市立大学消化器・腫瘍外科学 (第二外科) 入局。'10年、日本外科学会外科専門医取得。'11年4月より国立がん研究センター東病院免疫療法開発分野で、'13年6月より現所属にて中面哲也分野長の指導のもとに、がん免疫療法の開発を行っている。'12年4月より財団法人がん研究振興財団リサーチ・レジデント。現在は、ペプチドワクチン療法の臨床試験ならびにがん抗原特異的免疫療法の効果増強をめざした研究に従事している。

## 2. 肝臓のワクチン療法

国立がん研究センター東病院臨床開発センター免疫療法開発分野

大藤 和也 / 中面 哲也  
Kazuya Ofuji / Tetsuya Nakatsura

### はじめに

癌に対するワクチン療法とは、主に癌特異抗原を認識し、癌細胞を殺傷する能力を有する細胞傷害性Tリンパ球（CTL）を効率的に誘導することにより、抗腫瘍効果をもたらす治療法を指す。米国において、癌ワクチン治療薬としては初めて、前立腺癌に対するProvenge®が2010年にFDAに承認された。わが国における癌免疫療法開発は、ペプチドワクチン療法を中心に盛んな基礎、臨床研究が展開されている。癌ワクチンの実用化には、ランダム化試験での有効性を示す必要があり、いまだ解決しなければならない課題も多い。本稿では、肝臓に対するワクチン療法の概略と現況、その展望について述べる。

### CTL誘導を目的としたペプチドワクチン療法の原理

癌に対するペプチドワクチン療法の原理を図1に示す。最終エフェクター細胞であるCTLは、細胞膜表面に提示される9~10個のアミノ酸断片（ペプチド）とHLA class I分子の複合体を抗原として認識する。ペプチドワクチン療法は、人工的に合成した癌抗原由来ペプチドをアジュバントと呼ばれる免疫を活性化する添加剤とともに投与することにより、抗原特異的CTLを誘導するものである。

### 癌特異抗原

癌特異抗原の免疫療法への応用には、癌抗原の発現頻度、腫瘍特異性、免疫原性などの特徴を捉え

ることが重要である。われわれは、肝臓の新規癌抗原としてglypican-3（GPC3）を同定し<sup>1)</sup>、臨床試験を実施してきた。癌抗原としてのGPC3の最大の特徴は、肝臓に高頻度に発現し、正常組織においては胎生期の肝臓および胎盤でのみ発現している点である。したがって、GPC3特異的CTLを体内で誘導した場合、理論上、抗腫瘍効果は期待できるが自己免疫応答を誘導しないため、GPC3は理想的な癌特異抗原であるといえる。

### 肝臓に対するワクチン療法の臨床応用

国立がん研究センター東病院で進行肝臓に対するGPC3ペプチドワクチンの第I相臨床試験が施行され、ワクチン投与開始後2カ月

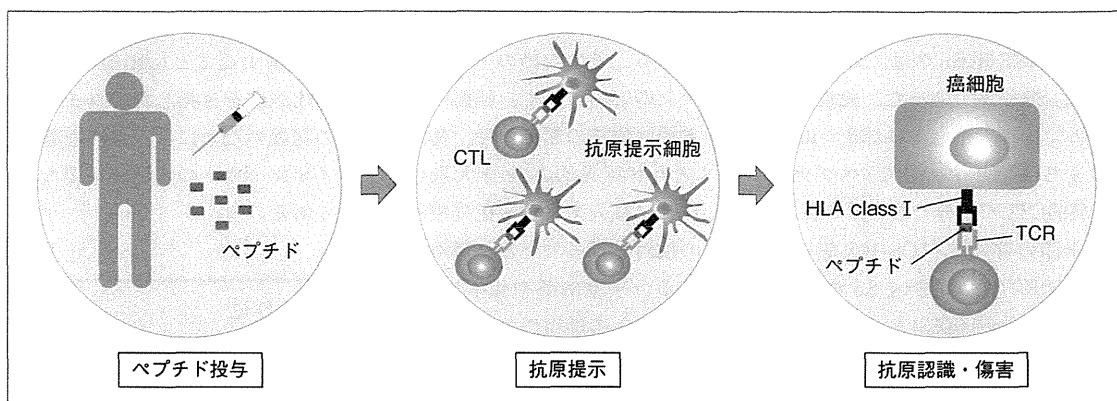
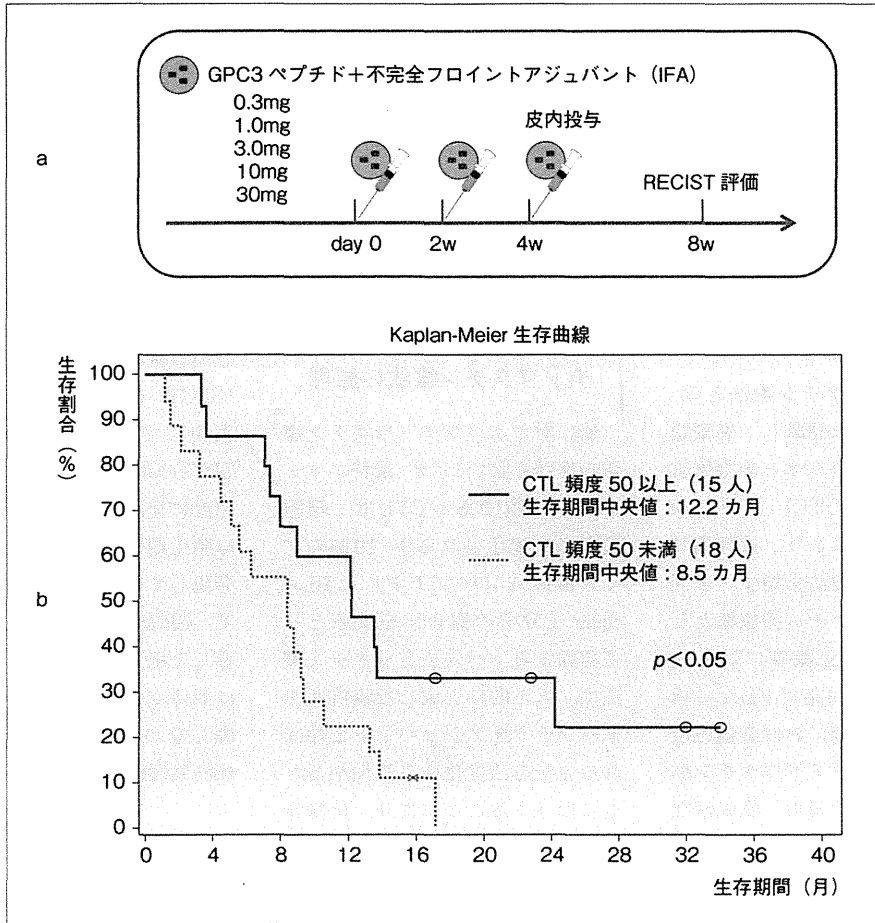


図1 ペプチドワクチン療法の原理

人工的に合成した9~10アミノ酸からなる癌抗原由来ペプチドを投与する。樹状細胞をはじめとする抗原提示細胞は、投与されたペプチドを抗原提示する。抗原提示を受けた細胞傷害性T細胞は増殖、活性化し、癌局所へ遊走する。癌局所へ遊走した細胞傷害性T細胞は癌細胞が内在的に提示する癌抗原由来ペプチドとHLA class I複合体を認識し、傷害する



〔文献2〕より引用・改変

図2 進行肝癌に対するGPC3ペプチドを用いた第I相臨床試験

進行肝癌症例33例を対象としたGPC3ペプチドを用いた第I相臨床試験。1回投与量を0.3, 1, 3, 10, 30 mgの5段階とし、2週間ごと、3回皮内に不完全フロイントアジュバント (IFA) と投与するプロトコルで施行した。免疫学的解析において、末梢血単核球 $5 \times 10^6$ 個のうち50個以上のGPC3ペプチド特異的CTLが誘導できた群では、50個未満の群に比べOS中央値の有意な延長 (12.2カ月 vs. 8.5カ月) がみられた ( $p = 0.033$ )

後のRECIST評価では、33例中PR1例、SD19例であった。免疫学的解析では、末梢血単核球 $5 \times 10^6$ 個のうち50個以上のGPC3ペプチド特異的CTLが誘導できた群では、50個未満の群に比べOS中央値の有意な延長 (12.2カ月 vs. 8.5カ月) がみられた ( $p = 0.033$ )<sup>2)</sup> (図2)。

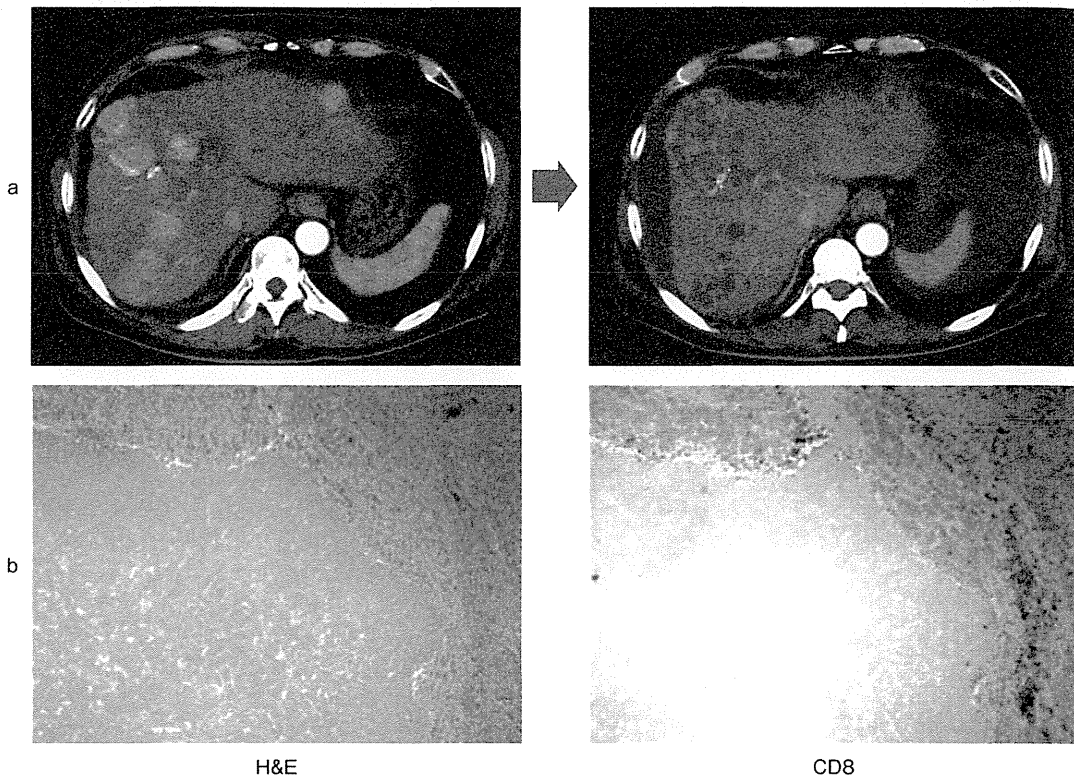
ペプチドワクチン療法によって、図3のような抗腫瘍効果を示す症例も存在する<sup>3)</sup>が、単剤のみでは効果が限定的である場合も多く、治療効果を増強させる工夫が

必要である。そのためのペプチドワクチンの応用として、腫瘍内ペプチド局注療法の開発<sup>4)</sup>や、体外でペプチド特異的CTLを大量培養し体内に移入する養子免疫療法などの検討も行っている。標準治療である分子標的薬や化学療法、放射線療法との併用による効果の増強も期待される。肝癌に特徴的な治療法としてはTACE施行時の腫瘍内への樹状細胞投与なども試みられている。また、現時点で投与前および投与開始後早期に効

果を予測することは困難であり、個別化医療を目指したワクチン療法の発展のためには、有効な新規バイオマーカーの開発が重要な課題である。

### おわりに

ペプチドワクチン療法の最大の特徴は、従来の化学療法と比べ副作用が軽微であり、外来にて簡便に施行できる点である。もう治療法がない進行癌患者の最後の砦と



〔文献3〕より引用・改変〕

図3 GPC3ペプチドワクチンによる抗腫瘍効果を認めた症例

a: 腹部造影CT

左: GPC3ペプチドワクチン投与前。両葉に多発する肝癌を認め、腫瘍は濃染像を呈している

右: GPC3ペプチドワクチン2回投与後。両葉の多発腫瘍は大部分で低吸収域となり、壊死像を呈している

b: 病理組織所見 (剖検)

左: H & E染色では、広範な肝細胞癌の壊死像を認め、その辺縁の一部に残存腫瘍細胞を認める

右: 免疫染色では、残存腫瘍細胞部に一致してCD8<sup>+</sup>T細胞 (CTL) の浸潤を認める

なり得る治療法である。肝癌に対するGPC3ペプチドワクチン療法は臨床試験の結果を受け企業への導出がなされ、GPC3ペプチドを含むカクテルワクチンの企業治験がスタートした。さらなる基礎および臨床研究の展開により、第4の癌治療法としての確立が期待される。

●文献

1) Nakatsura T, et al : Glypican-3, overexpressed specifi-

cally in human hepatocellular carcinoma, is a novel tumor marker. *Biochem Biophys Res Commun* 306 : 16~25, 2003.

2) Sawada Y, et al : Phase I trial of a glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma : Immunologic evidence and potential for improving overall survival. *Clin Cancer Res* 18 : 3686~96, 2012.

3) Sawada Y, et al : Remarkable tumor lysis in a hepatocellular

carcinoma patient immediately following glypican-3-derived peptide vaccination : An autopsy case. *Hum Vaccin Immunother* Mar 6 ; 9 (7), 2013.

4) Nobuoka D, et al : Intratumoral peptide injection enhances tumor cell antigenicity recognized by cytotoxic T lymphocytes : A potential option for improvement in antigen-specific cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother* 62 : 639~52, 2013.

