

厚生労働科学研究費補助金（がん対策推進総合研究事業）
（総合）分担研究報告書

肺癌術後補助療法としての WT1 ペプチド免疫療法（治験）：画像中央判定

研究分担者 富山 憲幸 大阪大学 教授

研究要旨

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。

A. 研究目的

非小細胞肺癌の治療効果判定には、主に固形がんの治療効果判定のためのガイドライン（Response Evaluation Criteria in Solid Tumors: RECIST）が用いられているが、RECIST では腫瘍縮小効果の評価のために、腫瘍病変を一次的に測定する。このため、腫瘍縮小効果を正確に反映していないことが指摘されていた。本研究では、ヘリカル CT から得られたボリュームデータとコンピュータ支援画像診断(computer assisted diagnosis : CAD)の最新技術を駆使して、肺腫瘍の三次元体積を測定し、腫瘍縮小効果を正確に評価してこれを検証することを目的とする。近年、CT 機器メーカーから被曝低減を目的とした逐次近似法や高分解モードなどの新たな技術が開発され、この機能が CT 機器に搭載されるようになってきた。今年度はこの機能を用いて撮像されたボリュームデータにおける三次元的体積測定の精度を検証する。

B. 研究方法

平成 23 年度は次の研究手法で研究を施行した。非小細胞肺癌病変の連続ボリューム CT データを取得後、コンピュータ支援画像診断プログラムを用いて腫瘍体積の三次元的測定と再現性の評価・抗がん剤治療中の非小細胞肺癌症例 100 例を対象に治療前・1 コース治療毎・治療終了後に CT を撮影した。CT 装置は大阪大学医学部附属病院に設置されている検出器 64 列以上のマルチスライス CT（GE ヘルスケア株式会社製、あるいは東芝メディカル株式会社製）を用いた。撮影条件は電圧 120KV、電流は CT 装置に内蔵されている自動被曝低減システムを用いて被曝線量を低減した。腫瘍全体を 0.625mm 以下の薄い

スライス厚で撮影して、腫瘍全体の連続画像を取得した。得られたボリュームデータは PACS システムを介して、サーバーに保管した。サーバーから 3D ワークステーション (GE ヘルスケア株式会社) (現有) に上記で取得したボリュームデータを転送し、ワークステーションに実装されている肺結節解析ソフト (Lung VCAR) を用いて、腫瘍の体積を三次元的に測定した。すべての症例の測定はそれぞれ 3 人の放射線科医で行い、腫瘍平均体積・標準偏差を計算し相関検定を行い、測定者間の誤差を検証して再現性を評価した。続いて、RECIST 1.1 に準じて腫瘍最大径を計測し、三次元的体積測定法との対比・精度検証した。すべての症例に対して治療前・1 コース治療毎・治療終了後に撮影された CT 画像から RECIST 1.1 に準じて腫瘍最大径を計測した。次に、腫瘍が球形であると仮定し、腫瘍最大径を直径として腫瘍の体積を計算した。このデータを三次元的体積測定法にて計算された結果と対比し、それぞれの症例において両測定の体積差を計算し、検討した。

・治療効果判定においても両測定法を対比した。まず、治療経過中に撮影された CT 画像から RECIST 1.1 に基づいて腫瘍最大径を計測し、治療効果判定を行う。また上述の腫瘍形態が球形であるという仮定を治療効果判定にも適応し、RECIST 1.1 を参考に三次元的体積測定法での治療効果評価を次のように定義した。CR:腫瘍の消失が 4 週以上持続、PR:腫瘍体積の $65.7\% (=1-0.7 \times 0.7 \times 0.7)$ 以上の縮小が 4 週以上持続、PD:腫瘍体積の $72.8\% (=1.2 \times 1.2 \times 1.2 - 1)$ 以上の増大、SD:PR にも PD にも該当しない変化。この定義に基づいて治療経過中に撮影された CT 画像から三次元的体積測定法にて計算された体積から治療効果を判定した。最後に両測定法による治療効果判定を対比・検討した。平成 24 年度は非小細胞肺癌病変の連続ボリューム CT データを取得後、コンピュータ支援画像診断プログラムを用いて腫瘍体積の三次元的測定と再現性の評価を行った。また、RECIST 1.1 に準じて腫瘍最大径を計測し、三次元的体積測定法との対比・精度検証を行った。平成 25 年度は胸部ファントムに 5mm、8mm、10mm、12mm の充実性結節を貼り付け、様々な電流を用いて撮像した。撮像モードは通常モードと高分解能モードの 2 種類を使用した。得られた画像データに逐次近似法の処理 (0%, 50%, 100%) を行った。それぞれのデータに対して三次元的体積測定ソフトを行って結節の体積を求め、逐次近似法や撮像モードの影響を比較した。平成 26 年度は大阪大学医学部附属病院の画像 PACS サーバーから、WT1 がんワクチンにて治療をうけた非小細胞肺癌患者の CT 画像の連続ボリューム CT データを取得後、コンピュータ支援画像診断プログラムを用いて腫瘍体積の三次元的測定と再現性の評価を行った。また、RECIST 1.1 に準じて腫瘍最大径を計測し、三次元的体積測定法との対比・精度検証を行った。

(倫理面への配慮)

・本研究で扱う画像データ及び臨床データの取得にあたっては患者本人より文書による informed consent を取得した。

C. 研究結果

コンピュータ支援画像診断プログラムを用いた肺腫瘍の三次元的体積測定を腫瘍体積変化率の評価に導入した結果、再現性よく微小な体積変化の検知が可能であった。また、また、人が手で計測するのではなくコンピュータを用いて自動的に計算しているため、算出された腫瘍体積の再現性が大変高かった。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有用であった。撮像モードでは、通常モードにおいて絶対的および相対的な計測誤差は逐次近似法を用いることにより改善したが、有意ではなかった。一方、高分解モードにおいては、肺結節の過大評価は逐次近似法を用いることにより有意に改善した。本研究開始から WT1 がんワクチンにて治療を受けた患者は計 20 名であったが、非小細胞肺癌患者は 2 名のみであった。また、この 2 名はそれぞれ放射線化学療法、手術で治療を受けており、三次元的体積測定法にて測定可能な病変はなかった。

D. 考察

抗がん剤に対する腫瘍の客観的な縮小効果を評価する試みは 1960 年代から開始されているが、代表的な定義は世界保健機関 (WHO) が 1979 年に WHO ハンドブックとして公表したものが最初である。しかし、WHO 規準を用いるうちにいくつかの問題が生じてきた。これらの問題を解決するために、WHO 規準の改訂版を策定することとなり、2000 年に固形がんの治療効果判定のためのガイドライン (Response Evaluation Criteria in Solid Tumors : RECIST) が発表された。その後、この RECIST は広く普及した治療効果判定法となった。2009 年に改訂が行われ、現在の最新版は RECIST 1.1 である。RECIST 1.1 では腫瘍縮小効果の評価のために、腫瘍病変を一次的に測定する。腫瘍量の測定の精密性を向上させることそのものより、方法論の標準化と単純化が求められていたためだが、腫瘍縮小効果判定の指標とするには精度の上で難点があることは否めない。なぜなら、腫瘍は治療経過中で様々な形態をとりながら縮小することがあるため、評価時点で腫瘍サイズの測定方向が異なることがあり、測定する画像断面も全く異なることが起こり得る。また、腫瘍サイズを人が測定するため測定者間で測定誤差があり、たとえ同じ測定者であっても測定毎に誤差が生じる。現在、CT から得られるボリュームデータを 3 次的に画像解析することで、より精度高く、より客観的な指標が導出可能となった。近年特に日本においては、ヘリカル CT やマルチスライス CT の普及と高機能化が急速に進み、ボリュームデータの取得が容易となった。また、コンピュータ支援画像診断の進歩により、ボリュームデータを用いた様々な解析が可能となっている。ヘリカル CT やマルチスライス CT の普及と高機能化が急速に進み、ボリュームデータの取得が容易となった。また、コンピュータ支援画像診断の進歩により、ボリュームデータを用いた様々な解析が可能となっている。

一般に、CT 撮影時の被曝低減のため低電流で撮影すると、ノイズが増加するため画質が低下する。このデータを用いて三次元的体積測定を行うと結節の体積を過大評価、あるいは

は過小評価し、正確な体積を反映しないことが知られている。近年、この低線量撮影によるノイズを減少可能な逐次近似法が開発され、CT 機器に搭載されるようになってきた。また、病変をより詳細に観察できる高分解モードも開発されたが、分解能を向上させると画像ノイズは増加する。この問題に対しても逐次近似法の有効性が示されている。今回我々は、逐次近似法や高分解モードの三次元的体積測定に及ぼす影響を検討した。この結果、逐次近似法は画像ノイズの減少に有効であるとともに、三次元的体積測定の誤差を減少させることを明らかにした。逐次近似法を用いることにより患者の被曝低減が可能であるため、WT1 がんワクチンによる肺癌の治療効果判定のための CT 撮影にも使用されることが予想されるが、その際にも三次元的 CT 体積測定法は適応可能であることが示された。三次元的 CT 体積測定法を WT1 がんワクチンによる肺癌の治療効果判定に応用する計画であったが、症例不足のため十分な検討ができなかった。今後の症例蓄積が望まれる。

E. 結論

肺癌の治療効果評価において、三次元的 CT 体積測定法は有用である。また、この方法は逐次近似法や高分解モードなどの新技術にも適応可能である。WT1 がんワクチンによる肺癌の治療効果判定の有用性に関する評価は、今後の継続した検討が必要である。

F. 研究発表

1. 論文発表

- 1) Coenen A, Honda O, van der Jagt EJ, Tomiyama N. Computer-assisted solid lung nodule 3D volumetry on CT: influence of scan mode and iterative reconstruction: a CT phantom study. *Jpn J Radiol.* 31: 677-84, 2013.
- 2) Yanagawa M, Honda O, Kikuyama A, Gyobu T, Sumikawa H, Koyama M, Tomiyama N. Pulmonary nodules: effect of adaptive statistical iterative reconstruction (ASIR) technique on performance of a computer-aided detection (CAD) system-comparison of performance between different-dose CT scans. *Eur J Radiol.* 81: 2877-86, 2012.
- 3) Yanagawa M, Gyobu T, Leung AN, Kawai M, Kawata Y, Sumikawa H, Honda O, Tomiyama N. Ultra-low-dose CT of the Lung: Effect of Iterative Reconstruction Techniques on Image Quality. *Acad Radiol.* 21: 695-703, 2014.
- 4) Yanagawa M, Tanaka Y, Leung AN, Morii E, Kusumoto M, Watanabe S, Watanabe H, Inoue M, Okumura M, Gyobu T, Ueda K, Honda O, Sumikawa H, Johkoh T, Tomiyama N. Prognostic Importance of Volumetric Measurements in Stage I Lung Adenocarcinoma. *Radiology.* 272: 557-67, 2014.

2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年)

- 1) Yanagawa M, Tanaka Y, Morii E, Okumura M, Johkoh T, Tomiyama N, et al. Three-dimensional (3-D) quantitative analysis of preoperative CT images in pathological stage I pulmonary adenocarcinomas: Correlation of radiologic CT data with prognostic factors. Radiological Society of North America 98th Scientific Assembly and Annual Meeting (RSNA 2011), Chicago, USA, 2011

- 2) Yanagawa M, Honda O, Gyobu T, Sumikawa H, Kawai M, Kawata Y, Koyama M, Tomiyama N. Image quality of the lung on ultralow dose CT: Adaptive statistical iterative reconstruction (ASiR) vs. Model based iterative reconstruction (MBIR) . Radiological Society of North America 98th Scientific Assembly and Annual Meeting (RSNA 2012), Chicago, USA, 2012

H. 知的財産権の出願・登録状況（予定含む）

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他
無し

厚生労働科学研究費補助金（がん対策推進総合研究事業）
（総合）分担研究報告書

肺癌に対する標準治療の確立と WT-1 に関する研究

研究分担者 東海中央病院 坂本純一 院長

研究要旨

非小細胞肺癌切除例に対する術後補助化学療法の有用性について、カルボプラチン+パクリタキセル療法と UFT 経口投与療法の有効性を比較する randomized phase III study を行い、集積症例の追跡調査を実施している。
また、進行肺癌に対する WT-1 ペプチド免疫療法を評価する第一相臨床試験を行い、その安全性を確認し、また有用性についての検証を進めている。

A. 研究目的

我が国における肺癌補助化学療法の標準治療法の探索および進行肺癌に対する S-1 療法の有用性を検討し、WT-1 免疫療法の効果の評価にあたっての baseline 治療の探索を行った。また、肺癌に対する WT-1 ペプチドワクチンを用いた第一相臨床試験を行い、安全性と有用性の検討を行った。

B. 研究方法

瀬戸内肺癌研究会と協力して非小細胞性肺癌症例を randomize し、補助療法におけるカルボプラチン+パクリタキセル群と UFT 群の比較を行った。また、進行肺癌症例に対して、WT-1 ペプチドワクチンを投与し、有害事象の発現、忍容性、至適投与量の検索を行うとともに、有用性についての評価を試みた。臨床試験遂行にあたり、25年にわたって臨床研究を行った実績と経験をもとに、Phase I 臨床試験の実際の実施に関する助言、指導を行った。

（倫理面への配慮）

ICH-GCP に則り、施設 IRB による承認、患者からの Informed Consent など、必要な倫理的配慮のうえで試験を実施した。参加各施設の IRB の承認を得たうえで臨床研究を行っている。

C. 研究結果

補助療法については、既に目標症例 401 例を 2010 年末までに集積し、5 年後 2016 年の最終フォローアップ終了後に解析を行い、標準治療の確立を目指す予定である。また、

進行肺癌に対する Phase I 研究には 6 症例を登録し、肺癌に対する WT-1 ペプチド療法の安全性が確認された。現在有用性についての検討が進行中である

D. 考察

臨床試験によって、わが国の肺癌補助療法における WT-1 治療の best partner としての chemotherapy を探索している。また、我が国における進行肺癌についても、Phase I 研究を行って WT-1 ペプチド免疫療法の安全性を有用性を検討することができた。

E. 結論

補助療法については 2016 年の最終生存期間の結果が待たれる。

また、進行肺癌の Phase I 医師主導型試験においては、WT-1 ペプチド免疫療法の安全性が確認された。

G. 研究発表

1. 論文発表
2. 学会発表

International Association for the Study of Lung Cancer Meeting 2011

H. 知的財産権の出願・登録状況

（予定を含む。）

1. 特許取得
特になし
2. 実用新案登録
特になし
3. その他
なし

厚生労働科学研究費補助金（がん対策推進総合研究事業）
（総合）分担研究報告書

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発
分担研究「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」

分担研究者 森田 智視 京都大学大学院医学研究科 教授

研究要旨

肺癌に対する WT1 ペプチド免疫療法の開発にあたり、臨床試験の役割とくに臨床統計解析の果たす役割について検討する。探索ステージとして重要な第Ⅱ相試験および最終検証ステージであるランダム化第Ⅲ相試験の試験デザインについて検討・評価を行った。

A. 研究目的

新治療法開発のためのがん第Ⅱ相試験および第Ⅲ相試験で用いられている試験デザインおよびデータ解析方法について最近の動向もあわせて検討する。

B. 研究方法

がん第Ⅱ相試験と第Ⅲ相試験で用いられる試験デザインに関する公表論文をレビューし、有用だと思われるデザインについてまとめる。

（倫理面への配慮）

統計的な研究であり、特に必要なし

C. 研究結果

臨床試験は大きく第Ⅰ相～第Ⅲ相の三つの相に分けて段階的に実施される。

第Ⅱ相試験では新規治療法の効果の評価し、その最大化のため対象集団を検討することも重要な目的である。最近の細胞ターゲット薬剤開発の流れを受けて、

バイオマーカー情報を考慮した試験デザインを用いた臨床試験が実施されるようになってきている。

第Ⅲ相試験は、新治療法の優越性あるいは非劣性を検証するために実施される。開発の最終段階にあるため慎重な実施が求められる。最近では、個別化医療を目指した治療開発のため、バイオマーカー情報を考慮した臨床試験が盛んに行われている。第Ⅱ相で複数の治療群を標準治療と比較することで“ベスト”のものを選択し、そのまま第Ⅲ相に移行して標準治療群との2群比較を実施していくシームレス（seamless）第Ⅱ／Ⅲ試験デザインが開発され、実際の臨床試験に適用され始めている。

D. 考察

第Ⅱ相試験と第Ⅲ相試験は連続的に実施されるため、第Ⅱ相試験において得られた結果の解釈はそのまま第Ⅲ相試験デザインに影響を与える。そのため、第Ⅱ相試験の成否が当該新治療法開発の成功・

非成功につながると考えるべきであろう。今後、第Ⅲ相試験の成功確率を高めるためにもより優れた第Ⅱ相試験デザインの開発が重要である。

E. 結論

効率的に臨床開発を推進できる第Ⅱ相試験デザインの検討は重要である。第Ⅱ相試験では新薬開発を効果的に推進できるデザイン検討が重要であり、第Ⅲ相試験では薬剤効果の検証を確実に実施できると同時に効率性も達成できるデザイン採用を検討すべきであろう。

G. 研究発表

1. 論文発表

1. Paoletti X, Oba K, Bang YJ, Bleiberg H, Boku N, Bouché O, Catalano P, Fuse N, Michiels S, Moehler M, Morita S, Ohashi Y, Ohtsu A, Roth A, Rougier P, Sakamoto J, Sargent D, Sasako M, Shitara K, Thuss-Patience P, Cutsem EV, Burzykowski T, Buyse M; on behalf of the GASTRIC group. Progression-Free Survival as a Surrogate for Overall Survival in Advanced/Recurrent Gastric Cancer Trials: A Meta-Analysis. *J Natl Cancer Inst.*105:1667-1670, 2013.
2. Kakizume T, Morita S. A continual reassessment method with cohort size adaptation based on Bayesian posterior probabilities in phase I dose-finding studies. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science.* 48: 213-219, 2014.
3. Ogura T, Morita S, Yonemori K, Nonaka T, Urano T. Detection of ethnic differences in toxicity in early phase clinical trials for oncology drugs. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science.* 48: 644-650, 2014.
4. Yamada Y, Takahari D, Matsumoto H, Baba H, Nakamura M, Yoshida K, Yoshida M, Iwamoto S, Shimada K, Komatsu Y, Sasaki Y, Satoh T, Takahashi T, Mishima H, Muro K, Watanabe M, Sakata Y, Morita S, Shimada Y, Sugihara K. Leucovorin, fluorouracil, and oxaliplatin plus bevacizumab in patients with metastatic colorectal cancer (SOFT): an open-label, non-inferiority, randomized phase 3 trial. *Lancet Oncol* 13: 1278-1286, 2013.
5. Morita S, Yamamoto H, Sugitani Y. Biomarker-based Bayesian randomized phase II clinical trial design to identify a sensitive patient subpopulation. *Stat Med*

33: 4008-4018, 2014.

6. Takeda K, Morita S. Incorporating historical data in Bayesian phase I trial design: The Caucasian-to-Asian toxicity tolerability problem. *Therapeutic Innovation & Regulatory Science* [Epub ahead of print]

2. 学会発表

特筆すべきものはなし

(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

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

II. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Sasabe E, Hamada F, Iiyama T, Udaka K, Sugiyama H, Yamamoto T.	Wilm's tumor gene WT1 peptide immunotherapy for pulmonary metastasis from a denoid cystic carcinoma of the salivary gland.	Oral oncology	47	77-78	2011
Wada N, Ikeda J, Hori Y, Fujita S, Ogawa H, Soma T, Sugiyama H, Fukuhara S, Kanamaru A, Hino M, Kanakura Y, Morii E, Aozasa K.	Epstein-barr virus in diffuse large B-Cell lymphoma in immunocompetent patients in Japan is as low as in Western Countries.	J Med Virol.	83	317-21	2011
Ohno S, Takano F, Ohta Y, Kyo S, Myojo S, Dohi S, Sugiyama H, Ohta T, Inoue M.	Frequency of myeloid dendritic cells can predict the efficacy of wilms' tumor 1 Peptide vaccination.	Anticancer Res.	31	2447-52	2011
Dohi S, Ohno S, Ohno Y, Takakura M, Kyo S, Soma G, Sugiyama H, Inoue M.	WT1 peptide vaccine stabilized intractable ovarian cancer patient for one year: a case report.	Anticancer Res.	31	2441-5	2011
Takahara A, Koido S, Ito M, Nagasaki E, Sagarawa Y, Iwamoto T, Komita H, Ochi T, Fujiwara H, Yasukawa M, Mineno J, Shiku H, Nishida S, Sugiyama H, Tajiri H, Homma S.	Gemcitabine enhances Wilms' tumor gene WT1 expression and sensitizes human pancreatic cancer cells with WT1-specific T-cell-mediated antitumor immune response.	Cancer Immunol Immunother.	60	1289-97	2011
Saji H, Tsuboi M, Yoshida K, Kato Y, Nomura M, Matsubayashi J, Nagao T, Kakihana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N.	Prognostic Impact of Number of Resected and Involved Lymph Nodes at Complete Resection on Survival in Non-small Cell Lung Cancer.	J. Thorac Oncol.	6	1865-1871	2011
Hosen N, Ichihara H, Mugitani A, Aoyama Y, Fukuda Y, Kishida S, Matsuoka Y, Nakajima H, Kawakami M, Yamagami T, Fuji S, Tamaki H, Nakao T, Nishida S, Tsuboi A, Iida S, Hino M, Oka Y, Oji Y, Sugiyama H.	CD48 as a novel molecular target for antibody therapy in multiple myeloma.	British Journal of Haematology.	156	213-224	2012
Nakajima H, Oka Y, Tsuboi A, Tatsumi N, Yamamoto Y, Fujiki F, Lie Z, Murao A, Morimoto S, Hosen N, Shirak	Enhanced tumor immunity of WT1 peptide vaccination by interferon β administration.	Vaccine	30	722-9	2012

ata T, Nishida S, Kawase I, Isaka Y, Oji Y, Sugiyama H.					
Hayashi S, Oji Y, Kanai Y, Teramoto T, Kitaichi M, Kawaguchi T, Okada M, Sugiyama H, Matsumura A.	Low Wilms' tumor gene expression in tumor tissues predicts poor prognosis in patients with non-small-cell lung cancer.	Cancer Invest.	30	165-71	2012
Hashii Y, Sato-Miyashita E, Matsumura R, Kusuki S, Yoshida H, Ohta H, Hosen N, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H, Ozono K.	WT1 peptide vaccination following allogeneic stem cell transplantation in pediatric leukemic patients with high risk for relapse: successful maintenance of durable remission.	Leukemia	26	530-532	2012
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
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	1081-5	2012
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
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
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
Tsuboi A, Oka Y, Kyo T, Katayama Y, Elisseeva OA, Kawakami M, Nishida S, Morimoto S, Murao A, Nakajima H, Hosen N, Oji Y, Sugiyama H.	Long-term WT1 peptide vaccination for patients with acute myeloid leukemia with minimal residual disease.	Leukemia	26	1410-13	2012
Ohno S, Okuyama R, Ar	Phase I trial of Wilms' T	Anticancer	32	2263-9	2012

uga A, <u>Sugiyama H</u> , Yamamoto M.	tumor 1 (WT1) peptide vaccine with GM-CSF or CpG in patients with solid malignancy.	Res			
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, <u>Sugiyama H</u> .	CD138-negative clonogenic cells are plasma cells but not B cells in some multiple myeloma patients.	Leukemia	26	2135-41	2012
Kijima N, Hosen N, Kawagawa N, Hashimoto N, Nakano A, Fujimoto Y, Kinoshita M, <u>Sugiyama H</u> , Yoshimine T.	CD166/Activated leukocyte cell adhesion molecule (ALCAM) is expressed on glioblastoma progenitor cells and involved in the regulation of tumor cell invasion.	Neuro Oncol.	14	1254-64	2012
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, <u>Sugiyama H</u> .	Recognition of a natural WT1 epitope by a modified WT1 peptide-specific T cell receptor.	Anticancer Res	32	5201-5209	2012
<u>Sugiyama H</u> .	WT1-targeting cancer vaccine.	Japanese Journal of Clinical Medicine,	70	2105-2113	2012
Saji H, Yoshida K, Kakihana M, Honda H, Nomura M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, <u>Ikeda N</u> .	Pathological Vascular Invasion and Tumor Differentiation Predict Cancer Recurrence in Stage IA Non-Small-Cell Lung Cancer After Complete Surgical Resection.	J Thorac Oncol,	7	1263-1270	2012
Kudo Y, Ichinose S, Kataba H, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Nakamura N, Nagao T,	An intrapericardial foregut cyst: report of a thoracoscopically resected case.	Surgery Today	42	899-902	2012
Yanagawa M, Honda O, Kikuyama A, Gyobu T, Sumikawa H, Koyama M, <u>Tomiyama N</u> .	Pulmonary nodules: effect of adaptive statistical iterative reconstruction (ASIR) technique on performance of a computer-aided detection (CAD) system-comparison of performance between different-dose CT scans.	Eur J Radiol.	81	2877-86	2012
Anguille S, Fujiki F, Smits EL, Oji Y, Lion E, Oka Y, Berneman ZN, <u>Sugiyama H</u> .	Identification of a Wilms' tumor 1-derived immunogenic CD4(+) T-cell epitope that is recognized in the context of common Cauc	Leukemia	27	748-750	2013

	asian HLA-DR haplotypes.				
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, <u>Sugiyama H</u> , 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
Lin Y, Fujiki F, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tanii S, Nakajima H, Tatsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, <u>Sugiyama H</u> .	HLA-DPB1*05:01-restricted WT1332-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
Tachino S, Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Morimoto S, Lin Y, Tamakawa T, Kondo K, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Kumanogoh A, <u>Sugiyama H</u> .	Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity.	Cancer Immunol Immunother	62	801-10	2013
Ueda Y, Mizutani C, Nannya Y, Kurokawa M, Kobayashi S, Takeuchi J, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kanakura Y, Niimi K, Sasaki K, Watanabe M, Emi N, Teramura M, Motoji T, Kida M, Usuki K, Takada S, Sakura T, Ito Y, Ohyashiki K, Ogawa H, Suzuki T, Ozawa K, Imai K, Kasai M, Hata T, Miyazaki Y, Morita Y, Kanamaru A, Matsuda A, Tohyama K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, <u>Sugiyama H</u> , Takaku F.	Clinical evaluation of WT1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes.	Leuk Lymphoma	54	1450-1458	2013
Maeda T, Hosen N, Fukushima K, Tsuboi A, Morimoto S, Matsui T, Sata H, Fujita J, Hasegawa K, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Nakajima H, Fujiki F, Tatsumi N, Kondo T, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kanakura Y, Kumanogoh A and <u>Sugiyama H</u> .	Maintenance of complete remission after allogeneic stem cell transplantation in leukemia patients treated with Wilms tumor 1 peptide vaccine.	Blood Cancer Journal		e130	2013
Tsukioka T, Yamamoto R, <u>Takahama M</u> , Nakajima R, Tei K, Okada S, Tada H.	Resection of a Second Primary Lung Cancer in a Lobe Where Small-Cell Lung Cancer was Previously Treated with Chemoradiotherapy: Report of a Case.	Ann Thorac Cardiovasc Surg	8		2013

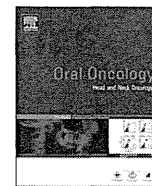
Toyokawa G, <u>Takeoyama M</u> , Taguchi K, Araki K, Inamasu E, Toyozawa R, Kojo M, Shirashi Y, Morodomi Y, Takenaka T, Hirai F, Yamaguchi M, Seto T, Leone A, Graziano P, Ichinose Y.	The first case of lung carcinoma harboring in-frame deletions at exon 9 in the EGFR gene.	Lung Cancer	81	491-494	2013
Toyokawa G, <u>Takeoyama M</u> , Ichinose Y.	Do mutations of the enhancer of zeste homolog 2 gene exist in small-cell lung cancer?	J Thorac Oncol	8	E103	2013
<u>竹之山光広</u> 、 <u>一瀬幸人</u>	Current Organ Topics Thorax/Lung and Mediastinum, Pleura Cancer 肺癌-肺癌治療における癌免疫療法の進歩-肺癌免疫療法の臨床試験	癌と化学療法	40	1018-1020	2013
Shimada Y, Saji H, Yoshida K, Kakihana M, Honda H, Nomura M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, <u>Ikeda N</u> .	Prognostic factors and the significance of treatment after recurrence in completely resected stage I non-small cell lung cancer	CHEST	143	1626-1634	2013
Kudo Y, Saji H, Shimada Y, Matsubayashi J, Nagao T, Kakihana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, <u>Ikeda N</u> .	Proposal on incorporating blood vessel invasion into the T classification parts as a practical staging system for stage I non-small cell lung cancer	Lung Cancer	81	187-193	2013
Saji H, Tsuboi M, Shimada Y, Kato Y, Hamanaka W, Kudo Y, Yoshida K, Matsubayashi J, Usuda J, Ohira T, <u>Ikeda N</u> .	Gene expression profiling and molecular pathway analysis for the identification of early-stage lung adenocarcinoma patients at risk for early recurrence	Oncol Rep.	29	1902-1906	2013
Shintani Y, <u>Abulaiti A</u> , Kimura T, Funaki S, Nakagiri T, Inoue M, Sawabata N, Minami M, Morii E, <u>Okumura M</u> .	Pulmonary fibroblasts induce epithelial mesenchymal transition and some characteristics of stem cells in non-small cell lung cancer.	Ann Thorac Surg.	96	425-433	2013
<u>Kumanogoh A</u> , <u>Kikutani H</u> .	Immunological functions of the neuropilins and plexins as receptors for semaphorins.	Nat Rev Immunol.	13	802-14	2013
Coenen A, Honda O, van der Jagt EJ, <u>Tomiyama N</u> .	Computer-assisted solid lung nodule 3D volumetry on CT: influence of scan mode and iterative reconstruction: a CT phantom study.	Jpn J Radiol.	31	677-84	2013
Nishida S, Koido S, Takeda Y, Honma S, Kimita H, Takahara A, Morita S, Ito T, Morimoto S, Hara K, Tsuboi A, Oka Y, Yanagisawa S, Toyama Y, Ikegami	Wilms Tumor Gene 1 (WT1) Peptide-based Cancer Vaccine Combined With Gemcitabine for Patients With Advanced Pancreatic Cancer.	J Immunother	37	105-14	2014

M, Kitagawa T, Eguchi H, Wada H, Nagano H, Nakata J, Nakae Y, Hosen N, Oji Y, Tanaka T, Kawase I, Kumanogoh A, Sakamoto J, Doki Y, Mori M, Ohkusa T, Tajiri H, <u>Sugiyama H.</u>					
Hosen N, Maeda T, Hashii Y, Tsuboi A, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, <u>Sugiyama H.</u>	Vaccination strategies to improve outcome of hematopoietic stem cell transplant in leukemia patients: early evidence and future prospects.	Expert Rev Hematol	7(5)	671-81	2014
Koido S, Homma S, Okamoto M, Takakura K, Mori M, Yoshizaki S, Tsuchinaga S, Odahara S, Koyama S, Imazu H, Uchiyama K, Kajihara M, Arakawa H, Misawa T, Toyama Y, Yanagisawa S, Ikegami M, Kan S, Hayashi K, Komita H, Kamata Y, Ito M, Ishidao T, Yusa SI, Shimodaira S, Gong J, <u>Sugiyama H.</u> , Ohkusa T, <u>Tajiri H.</u>	Treatment with Chemotherapy and Dendritic Cells Pulsed with Multiple Wilms' Tumor 1 (WT1)-Specific MHC Class I/II-Restricted Epitopes for Pancreatic Cancer.	Clin Cancer Res	20	4228-39	2014
Oji Y, Tatsumi N, Kobayashi J, Fukuda M, Ueda T, Nakano E, Saito C, Shibata S, Sumikawa M, Fukushima H, Saito A, Hojo N, Suzuki, Hoshikawa T, Shimura T, Morii E, Oka Y, Hosen N, Komatsu K, <u>Sugiyama H.</u>	Wilms' tumor gene WT1 promotes homologous recombination-mediated DNA damage repair.	Mol Carcinog	21		2014
Koido S, Kan S, Yoshida K, Yoshizaki S, Takakura K, Namiki Y, Tsuchinaga S, Odahara S, Kajihara M, Okamoto M, Ito M, Yusa SI, Gong J, <u>Sugiyama H.</u> , Ohkusa T, Homma S, <u>Tajiri H.</u>	Immunogenic Modulation of Cholangiocarcinoma Cells by Chemoimmunotherapy.	Anticancer Res	34	6353-61	2014
Kohno M, Okamoto T, Suda K, Shimokawa M, Kitahara H, Shimamatsu S, Konishi H, Yoshida T, Takenoyama M, Yano T, Maehara Y.	Prognostic and therapeutic implications of aromatase expression in lung adenocarcinomas with EGFR mutations.	Clin Cancer Res.	20	3613-22	2014
Saji H, Matsubayashi J, Akata S, Shimada Y, Kato Y, Kudo Y, Nagao T, Park J, Kakihana M, Kajiwarana N, Ohira T, <u>Ikeda N.</u>	Correlation between whole tumor size and solid component size on high-resolution computed tomography in the prediction of the degree of pathologic malignancy and the prognostic	Acta Radiol	in press		2014

	c outcome in primary lung adenocarcinoma.				
Yanagawa M, Gyobu T, Leung AN, Kawai M, Kawata Y, Sumikawa H, Honda O, Tomiyama N.	Ultra-low-dose CT of the Lung: Effect of Iterative Reconstruction Techniques on Image Quality.	Acad Radiol.	21	695-703	2014
Yanagawa M, Tanaka Y, Leung AN, Morii E, Kusumoto M, Watanabe S, Watanabe H, Inoue M, Okumura M, Gyobu T, Ueda K, Honda O, Sumikawa H, Johkoh T, Tomiyama N.	Prognostic Importance of Volumetric Measurements in Stage I Lung Adenocarcinoma.	Radiology	272	557-67	2014
Kohno M, Okamoto T, Suda K, Shimokawa M, Kitahara H, Shimamatsu S, Konishi H, Yoshida T, Takenovama M, Yano T, Maehara Y.	Prognostic and therapeutic implications of aromatase expression in lung adenocarcinomas with EGFR mutations.	Clin Cancer Res.	20	3613-22	2014
Saji H, Matsubayashi J, Akata S, Shimada Y, Kato Y, Kudo Y, Nagao T, Park J, Kakihana M, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N.	Correlation between whole tumor size and solid component size on high-resolution computed tomography in the prediction of the degree of pathologic malignancy and the prognostic outcome in primary lung adenocarcinoma.	Acta Radiol,		in press	2014
Yanagawa M, Gyobu T, Leung AN, Kawai M, Kawata Y, Sumikawa H, Honda O, Tomiyama N.	Ultra-low-dose CT of the Lung: Effect of Iterative Reconstruction Techniques on Image Quality.	Acad Radiol.	21	695-703	2014
Yanagawa M, Tanaka Y, Leung AN, Morii E, Kusumoto M, Watanabe S, Watanabe H, Inoue M, Okumura M, Gyobu T, Ueda K, Honda O, Sumikawa H, Johkoh T, Tomiyama N.	Prognostic Importance of Volumetric Measurements in Stage I Lung Adenocarcinoma.	Radiology	272	557-67	2014
Saito S, Yanagisawa R, Yoshikawa K, Higuchi Y, Koya T, Yoshizawa K, Tanaka M, Sakashita K, Kobayashi T, Kurata T, Hirabayashi K, Nakazawa Y, Shiohara M, Yonemitsu Y, Okamoto M, Sugiyama H, Koike K, Shimodaira S.	Safety and tolerability of allogeneic dendritic cell vaccination with induction of WT1-specific T cells in a paediatric donor and paediatric patient with relapsed leukaemia: A case report and review of the literature.	Cytotherapy	17	330-5	2015
Takakura K, Koido S, Kan S, Yoshida K, Mori M, Hirano Y, Ito Z, Kobayashi H, Takami S, Matsumoto Y, Kajihara M, Misawa T, Okamoto M, Sugiyama H, Homma S, Ohkusa T, Tajiri H.	Prognostic Markers for Patient Outcome Following Vaccination with Multiple MHC Class I/II-restricted WT1 Peptide-pulsed Dendritic Cells Plus Chemotherapy for Pancreatic Cancer.	Anticancer Res	35	555-62	2015

Katsuhara K, Fujiki F, Aoyama N, Tanii S, Morimoto S, Oka Y, Tsuboi A, Nakajima H, Kondo K, Tatsumi N, Nakata J, Nakae Y, Takahima S, Nishida S, Hosen N, Sogo S, Oji Y, Sugiyama H.	Transduction of R Novel HLA-DRB1*04:05-restricted, WT1-specific TCO Gene into Human CD4 ⁺ P Cells Confers Killing Activity Against Human Leukemic Cells.	Anticancer Res	35	1251-1262	2015
Hashimoto N, Tsuboi A, Kagawa N, Chiba Y, Izumoto S, Kinoshita M, Kijima N, Oka Y, Morimoto S, Nakajima H, Morita S, Sakamoto J, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Arita N, Yoshimine T, <u>Sugiyama H.</u>	Wilms tumor 1 peptide vaccination combined with temozolomide against newly diagnosed glioblastoma: safety and impact on immunological response.	Cancer Immunol Immunother	14		2015
Koido S, Homma S, Okamoto M, Takakura K, Gong J, <u>Sugiyama H.</u> , Ohkusa T, Tajiri H.	Chemoimmunotherapy targeting Wilms' tumor 1 (WT1)-specific cytotoxic T lymphocyte and helper T cell responses for patients with pancreatic cancer.	Onco Immunology	in press		2015

III. 研究成果の刊行物・別刷



Letter to the Editor

Wilm's tumor gene WT1 peptide immunotherapy for pulmonary metastasis from adenoid cystic carcinoma of the salivary gland

To the editor:

Adenoid cystic carcinoma of the salivary gland (ACC) is known for its high propensity to develop locoregional recurrence and metastasize to distant organs, the lungs being the most commonly involved organ [1–3]. Although distant metastases occur in 25–50% of ACC, no absolute treatment criteria for lung metastases have been established, because ACC frequently demonstrates poor sensitivity to chemotherapy, and recurrence often occurs after surgery [4]. The Wilm's tumor gene (WT1) has an oncogenic function and is overexpressed in various types of hematological malignancies and solid tumors, including head and neck cancer [5,6]. It has been demonstrated that WT1 peptide immunotherapy can induce the generation of WT1-specific cytotoxic T lymphocytes (CTL) without damaging normal tissue [7,8]. Accumulating evidence has demonstrated that WT1 protein is immunogenic in humans [9]. Here, we report a case of pulmonary metastasis from ACC of the sublingual gland that was treated with WT1 peptide immunotherapy effectively.

The patient was a 66-year-old female with ACC of the right sublingual gland and one metastasis to the pulmonary region (T3N0M1, stage IVC). She received chemo-radio-immunotherapy consisting of intra-arterial injection of 5-fluorouracil (2500 mg); cis-diamminedichloroplatinum (II) (900 mg); peplomycin (40 mg); X-ray irradiation (61.2 Gy); lymphokine-activated killer cells (6.6×10^8 cells); recombinant interleukin-2 (2.8×10^6 units), recombinant interferon- γ (IFN- γ ; 1.7×10^6 units), and intradermal injections of OK-432, a streptococcal preparation (85 KE). After the combined therapy, S-1 (2560 mg) was administered orally. Although the response of the primary tumor was defined as a complete response according to the RECIST criteria (version 1.1) (Fig. 1), CT showed that the pulmonary metastatic lesion had grown (Fig. 2B). She was then enrolled in the phase I clinical study led by H. Sugiyama (approved by the institutional ethical review board at Kochi Medical School). From April 2005, after one month of the chemo-radio-immunotherapy, she received intradermal injections of 3 mg of a HLA-A*2402-restricted, 9-mer WT1 peptide (235Y; CYTWNQMNL, 235–243) in Montanide ISA51 adjuvant weekly for a total of 50 times. During the WT1 vaccination, the size of the pulmonary metastatic lesion did not change (Figs. 2 and 3). No adverse effects were observed except for local skin erythema at the injection sites. The patient's general condition was good, and no clinical relapse occurred during the WT1 peptide vaccination.

The baseline frequencies of WT1-specific CTL by counting the number of IFN- γ -producing cells in peripheral blood mononuclear cells using an enzyme-linked immunosorbent spot assay showed that the WT1 peptide vaccination group had increased numbers of IFN- γ -producing cells at both preimmunization and after three

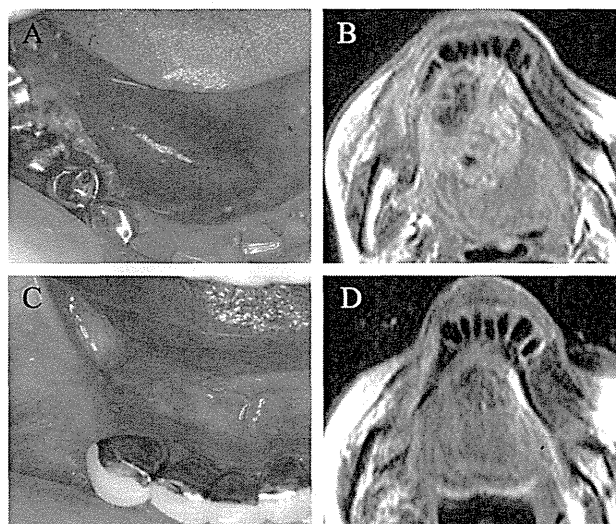


Figure 1. Primary tumor before and after chemoradioimmunotherapy. A and B: Clinical features of the primary tumor (A) and enhanced MRI imaging of the primary tumor (B) before chemoradioimmunotherapy. C and D: Clinical features (C) and enhanced MRI imaging (D) after chemoradioimmunotherapy.

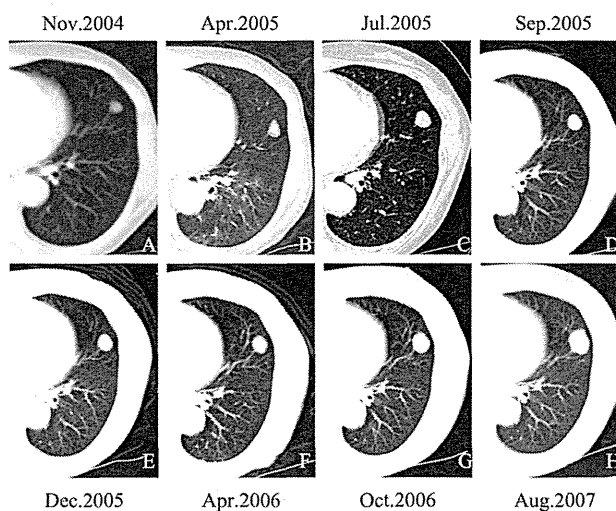


Figure 2. Pulmonary metastatic lesion before and after the immunotherapy. The time course of the lung metastasis growth was monitored by helical CT.

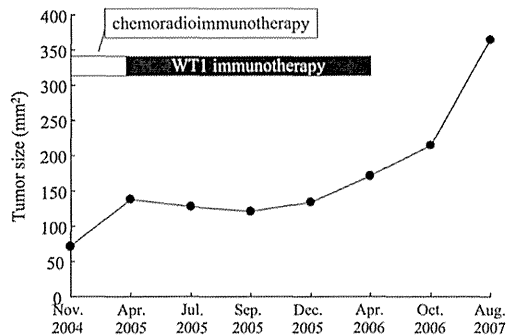


Figure 3. Clinical response of the metastatic tumor. Tumor size was determined as the largest diameter shown on helical CT.

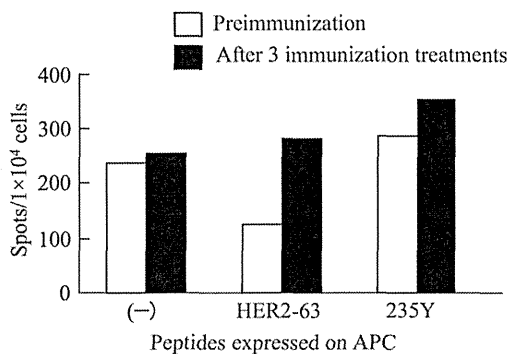


Figure 4. The proportion of IFN- γ -producing peripheral blood mononuclear cells (PBMC) was calculated using an ELISPOT assay. PBMC isolated from the patient were stimulated with DMEM (Dulbecco's modified minimum essential medium) supplemented with 10% human serum, 10 units/ml human IL-2, 5 ng/ml human IL-7, and 100 pg/ml human IL-12 in the presence or absence of 1 μ M peptides (WT1-235Y (CYTWNQMNL), HER2-63). After being cultured for 7 days, the cells were restimulated by the addition of autologous mitomycin C-treated PBMC and 1 μ M peptides. After an additional 7 days of culture, the cells were restimulated in the same way. The next day, IL-2 was added to produce a final concentration of 20 units/mL. Ten days after the final stimulation, the cells were seeded in 96-well plates coated with antihuman IFN- γ antibody. The cells that had been pulsed with peptide and responder cells were seeded in each well and incubated overnight. Spots were counted using a Zeiss KS Elispot Compact reader (Carl Zeiss, Inc., Minneapolis, MN).

immunization treatments (Fig. 4). However, the pulmonary metastatic lesion grew rapidly after immunization was stopped (Fig. 2G and H) and new metastases in the lungs, mediastinal lymph nodes, and left iliac bone developed, suggesting that WT1 peptide immunotherapy is an appropriate treatment for lung metastasis from ACC.

Conflicts of interest statement

None declared.

References

1. Spiro RH, Huvos AG, Strong EW. Adenoid cystic carcinoma of salivary origin: a clinicopathologic study of 242 cases. *Am J Surg* 1974;**128**(4):512–20.

2. Spiro RH. Distant metastasis in adenoid cystic carcinoma of salivary origin. *Am J Surg* 1997;**174**(5):495–8.
3. Fordice J, Kershaw C, El-Naggar A, Goepfert H. Adenoid cystic carcinoma of the head and neck: predictors of morbidity and mortality. *Arch Otolaryngol Head Neck Surg* 1999;**125**(2):149–52.
4. Dodd RL, Slevin NJ. Salivary gland adenoid cystic carcinoma: a review of chemotherapy and molecular therapies. *Oral Oncol* 2006;**42**(8):759–69.
5. Oji Y, Ogawa H, Tamaki H, Oka Y, Tsuboi A, Kim EH, et al. Expression of the Wilms' tumor gene WT1 in solid tumors and its involvement in tumor cell growth. *Jpn J Cancer Res* 1999;**90**(2):194–204.
6. Nakatsuka S, Oji Y, Horiuchi T, Kanda T, Kitagawa M, Takeuchi T, et al. Immunohistochemical detection of WT1 protein in a variety of cancer cells. *Mod Pathol* 2006;**19**(6):804–14.
7. Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Udaka K, Sugiyama H. WT1 as a novel target antigen for cancer immunotherapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2002;**2**(1):45–54.
8. Sugiyama H. WT1 (Wilms' tumor gene 1): biology and cancer immunotherapy. *Jpn J Clin Oncol* 2010;**40**(5):377–87.
9. Oka Y, Tsuboi A, Taguchi T, Osaki T, Kyo T, Nakajima H, et al. Induction of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific cytotoxic T lymphocytes by WT1 peptide vaccine and the resultant cancer regression. *Proc Natl Acad Sci USA* 2004;**101**(38):13885–90.

Eri Sasabe

Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
Kochi Medical School, Kochi University,
Kohasu, Oko-cho, Nankoku-city, Kochi 783-8505,
Japan
Tel.: +81 88 880 2423; fax: +81 88 880 2424
E-mail address: yoshieri@kochi-u.ac.jp

Fumito Hamada

Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
Kochi Medical School, Kochi University,
Kohasu, Oko-cho, Nankoku-city, Kochi 783-8505,
Japan

Tatsuo Iiyama

Department of Immunology, Kochi Medical School,
Kochi University Kohasu, Oko-cho,
Nankoku-city, Kochi 783-8505,
Japan

Keiko Udaka

Department of Immunology, Kochi Medical School,
Kochi University Kohasu, Oko-cho,
Nankoku-city, Kochi 783-8505,
Japan

Haruo Sugiyama

Department of Functional Diagnostic Science,
Osaka University,
Graduate school of Medicine,
Yamada-Oka,
Suita-city,
Osaka 565-0871,
Japan

Tetsuya Yamamoto

Department of Oral and Maxillofacial Surgery,
Kochi Medical School, Kochi University,
Kohasu, Oko-cho, Nankoku-city, Kochi 783-8505,
Japan

Available online 11 November 2010