

- 免疫学会 (山口)、2013年7月3日～5日
- 11-12, 2013
- 4) 進行卵巣明細胞腺癌に対するGlypican3 ペプチドワクチン療法～抗腫瘍効果が得られた2 例を中心に～、鈴木史朗、柴田清住、梅津朋和、水野美香、梶山広明、吉川史隆、中面哲也 ワークショップ2: 卵巣明細胞腺癌の予後改善を目指して、第54回日本婦人科腫瘍学会学術講演会(東京)、2013年7月19～21日
 - 5) 小児がんに対するペプチドワクチン、中面哲也 ワークショップ「がんペプチドワクチン療法の臨床試験」、第11回日本臨床腫瘍学会学術集会(仙台)、2013年8月29日～31日
 - 6) 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
 - 7) 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
 - 8) 肝細胞がんに対する γ δ 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
 - 9) リンパ球減少誘導後のホメオスタティック プロリフェ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
 - 10) 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 International Symposium on Immunotherapy (London), October 11-12, 2013
 - 11) Glypican-3-derived Peptide Vaccine Therapy combined with Chemotherapy against Progressive Ovarian Clear Cell Carcinoma. Suzuki S, Shibata K, Kikkawa F, Nakatsura T. The International Symposium on Immunotherapy(London), October 11-12, 2013
 - 12) 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、中面哲也 シンポジウム、第26回日本バイオセラピー学会(盛岡)、2013年12月5日～6日
 - 13) 非小細胞肺癌における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ー学会(盛岡)、2013年12月5日～6日
 - 14) CTLおよび γ δ 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ー学会(盛岡)、2013年12月5日～6日
 - 15) 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
 - 16) 卵巣明細胞腺癌に対するGlypican-3ペプチドワクチン療法の臨床的・免疫学的検討～臨床的寛解が得られた症例に対するAdjuvant therapyに関して～、鈴木史朗、柴田清住、中面哲也 第11回日本免疫治療学研究会学術集会(東京)、2014年2月22日
 - 17) Analysis of glypican-3 peptide specific cytotoxic T lymphocyte clones established from patients vaccinated with peptide and development of combination therapy of anti-FITC CAR T cells together with FITC-labeled antitumor Abs. Nakatsura T. The 17th US-Japan Cellular and Gene Therapy Conference: Chimeric Antigen Receptor T Cells for Cancer Therapy(Washington D.C.), March 6, 2014
 - 18) 集学的治療を行った仙尾部原発卵黄嚢腫瘍の1例、上野浩生、長谷川大輔、辻本信一、小野林太郎、吉本優里、細谷要介、吉原宏樹、熊本忠史、川野孝文、迫田晃子、野崎太希、関口建次、中面哲也、真部淳 2013年度関東甲信越地区小児がん登録研究会(東京)、2014年3月21日
- [平成 26 年度]
- 1) Phase I study of vaccine therapy with a cocktail of peptides for pediatric patients with refractory

- neuroblastoma, Ewing's sarcoma, rhabdomyosarcoma and osteosarcoma. Hosono A, Kaneda H, Hara J, Kinoshita Y, Kohashi K, Manabe A, Shioda Y, Nakatsura T. Connective Tissue Oncology Society (Berlin), October 15-18, 2014
- 2) 難治性小児固形腫瘍に対するペプチドカクテルワクチン療法の第1相試験第一報、細野亜古、金田英秀、原純一、木下義晶、孝橋賢一、真部淳、塩田曜子、中面哲也 シンポジウム、第56回日本小児血液・がん学会学術総会（岡山）、2014年11月28日～30日
 - 3) がん免疫療法の開発、中面哲也 プラクティカルセッション～明日から役立つ個別化医療、第18回国際個別化医療学会学術集会（札幌）、2014年6月14日
 - 4) Glypican 3 expressions in pediatric malignant solid tumors. Kinoshita Y, Tanaka S, Souzaki R, Miyoshi K, Kohashi K, Oda Y, Nakatsura T, Taguchi T. 15th Congress of the European Paediatric Surgeons' Association (Dublin), June 18-21, 2014
 - 5) がんワクチン開発の現状と課題、中面哲也 教育講演「がんワクチン開発の現状と課題」、第41回日本毒性学会学術年会（神戸）、2014年7月2日～4日
 - 6) がんに対する免疫療法の基本、中面哲也 教育セミナー「がん専門CRCのためのアドバンスセミナー」、第12回日本臨床腫瘍学会学術集会（福岡）、2014年7月17日～19日
 - 7) Glypican-3(GPC3) ペプチドワクチン投与後の投与局所及び腫瘍局所でのペプチド特異的CTLの解析、吉川聡明、下村真菜美、澤田雄、高橋真理、吉原宏樹、上野浩生、真部淳、細野亜古、植村靖史、中面哲也 第18回日本がん免疫学会総会（松山）、2014年7月30日～8月1日
 - 8) Glypican-3由来エピトープペプチド結合リポソームのCTL誘導能の評価、岩間達章、内田哲也、下村真菜美、吉川聡明、中面哲也 第18回日本がん免疫学会総会（松山）、2014年7月30日～8月1日
 - 9) 横紋筋肉腫におけるCXCR4、CXCR7、VEGFの発現と臨床病理学的検討、三好きな、久田正昭、孝橋賢一、山田裕一、山元英崇、岩本幸英、田口智章、小田義直 第11回日本病理学会カンファレンス（神戸）、2014年8月1日～2日
 - 10) Analysis of glypican-3 specific CTLs in the tumor tissue and vaccination site after administration of GPC3 peptide. (Glypican-3(GPC3) ペプチドワクチン投与後の投与局所及び腫瘍局所でのペプチド特異的CTLの解析)、吉川聡明、下村真菜美、澤田雄、植村靖史、中面哲也 第73回日本癌学会学術総会（横浜）、2014年9月25日～27日
 - 11) Evaluation of peptide-specific CTL-inducibility of glypican-3-derived peptide-coupled liposome vaccine. (Glypican-3由来ペプチドを結合したリポソームワクチンのペプチド特異的CTL誘導能評価)、岩間達章、内田哲也、下村真菜美、吉川聡明、中面哲也 第73回日本癌学会学術総会（横浜）、2014年9月25日～27日
 - 12) The enhancement of the CTL induction by peptide vaccine therapy in combination with anti-CD4 antibody (抗CD4抗体の併用投与は抗腫瘍ペプチドワクチン療法のCTLプライミング効率を高める)、藤浪紀洋、吉川聡明、澤田雄、下村真菜美、岩間達章、植村靖史、中面哲也 第73回日本癌学会学術総会（横浜）、2014年9月25日～27日
 - 13) EGFR T790M mutation-derived antigen provides the immunogenicity in NSCLC patients. (非小細胞肺癌におけるEGFR T790M変異由来抗原は免疫原性を与える)、大藤和也、吉川聡明、多田好孝、吉村麻友子、下村真菜美、中本安成、中面哲也 第73回日本癌学会学術総会（横浜）、2014年9月25日～27日
 - 14) Glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチン投与後の投与局所及び腫瘍局所でのペプチド特異的CTLの解析、吉川聡明、下村真菜美、澤田雄、高橋真理、植村靖史、中面哲也 第12回日本免疫治療学研究会学術集会（東京）、2015年2月28日

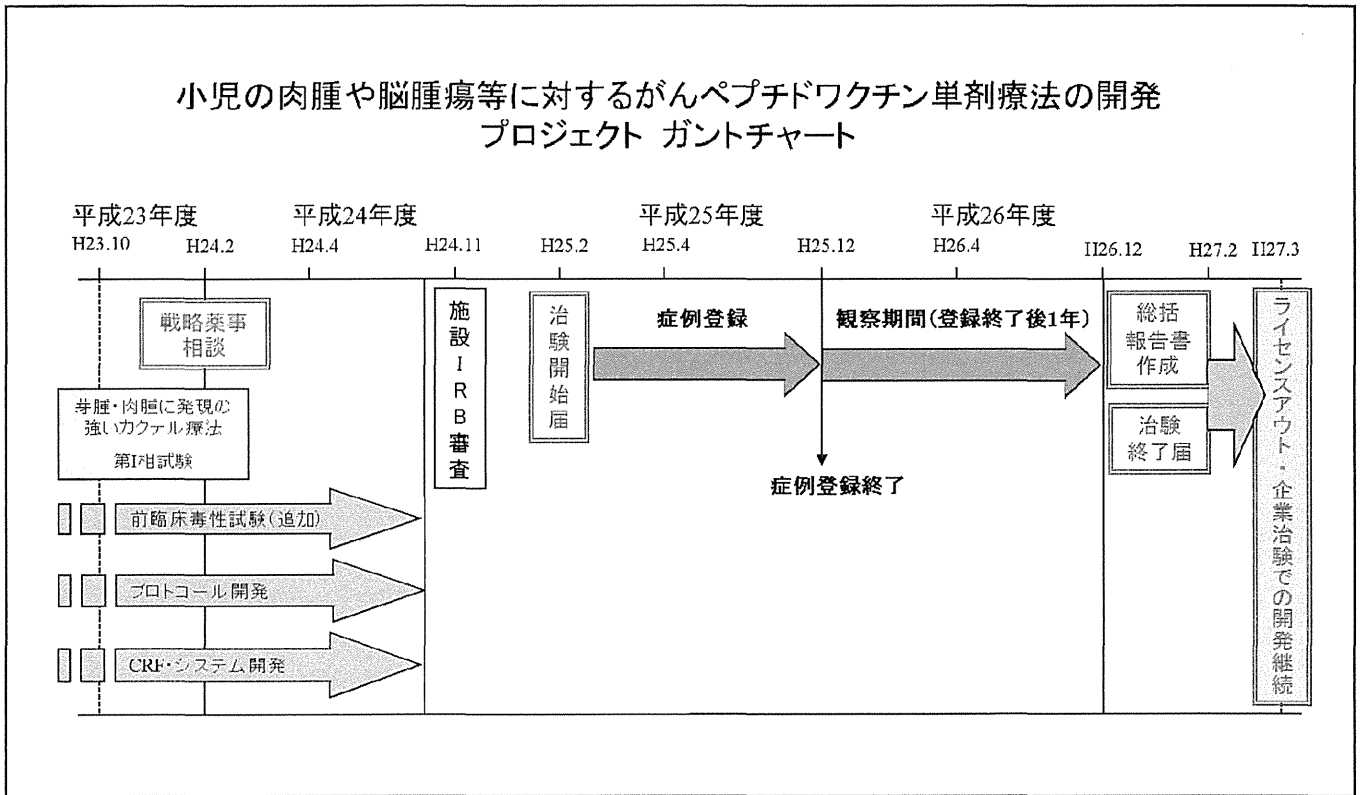
H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得
なし

2. 実用新案登録
なし

3. その他
なし

研究の概要図



Ⅲ. 研究成果の刊行に関する一覧表

書 籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書 籍 名	出版社名	出版地	出版年	ページ
平成23年度							
<u>中面哲也</u>	第9章 がん治療の新たな展開 治療法・治療装置の進歩 4. ペプチドワクチン療法	戸田剛太郎 ほか	消化器疾患の最新医療（先端医療シリーズ42）	先端医療技術研究所	東京	2011	164-167
平成24年度							
<u>澤田雄、中面哲也</u>	第9部：製品開発の事業化・推進 第7章：がんワクチンの開発動向・事例 第1節 がんワクチンにおける臨床試験・試験のデザインと実践 —アカデミアでのがんワクチン開発の経験—	技術情報協会編	希少疾患／難病の診断・治療と製品開発	技術情報協会	東京	2012	503-511

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
平成 23 年度					
Yoshikawa T, Nakatsugawa M, Suzuki S, Shirakawa H, Nobuoka D, Sakemura N, Motomura Y, Tanaka Y, Hayashi S, <u>Nakatsura T.</u>	HLA-A2-restricted glypican-3 peptide-specific CTL clones induced by peptide vaccine show high avidity and antigen-specific killing activity against tumor cells.	Cancer Sci.	102(5)	918-925	2011
Suzuki S, Yoshikawa T, Hirose T, Shibata K, Kikkawa F, Akatsuka Y, <u>Nakatsura T.</u>	Glypican-3 could be an effective target for immunotherapy combined with chemotherapy against ovarian clear cell carcinoma.	Cancer Sci.	102(9)	1622-1629	2011
Nobuoka D, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Kuronuma T, Takahashi M, Nakachi K, Ishii H, Furuse J, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kinoshita T, Komori H, Baba H, Fujiwara T, <u>Nakatsura T.</u>	Radiofrequency ablation for hepatocellular carcinoma induces glypican-3 peptide-specific cytotoxic T lymphocytes.	Int J Oncol.	40(1)	63-70	2012

中面哲也	国立がん研究センター東病院でのがんペプチドワクチン療法臨床試験の取り組み（第7回DIA日本年会 グローバル開発における日本の役割・日本の貢献 大学・研究機関・企業での臨床試験の実際）	臨床医薬	27(5)	313-321	2011
中面哲也, 澤田雄, 水野正一	肝癌の個別化医療—ワクチン・免疫療法を中心に—	臨床雑誌「外科」	73(10)	1062-1068	2011
澤田雄, 中面哲也	ペプチドワクチンを用いた免疫療法 glypican-3 (GPC3)由来ペプチドワクチン療法	腫瘍内科	8(5)	417-424	2011
大喜多肇、瀧本哲也、中澤温子、藤本純一郎、原純一	小児固形腫瘍観察研究	小児外科	43(11)	1238-1242	2011
原純一、瀧本哲也、大喜多肇	小児固形がん臨床試験共同機構	小児外科	43(11)	1149-1153	2011
原純一	小児がん患者、家族からかかりつけ医への質問 小児がんはどのように治療されるのですか？	治療（患者・家族の相談に応えるがん診療サポートガイド）	93巻4月増刊号	1171-1173	2011
平成 24 年度					
Sawada Y, Yoshikawa T, Nobuoka D, Shirakawa H, Kuronuma T, Motomura Y, Mizuno S, Ishii H, Nakachi K, Konishi M, Nakagori T, Takahashi S, Gotoda N, Takayama T, Yamao K, Uesaka K, Furuse J, Kinoshita T, <u>Nakatsura T.</u>	Phase I trial of glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma : immunological evidence and potential for improving overall survival.	Clin Cancer Res.	18(13)	3686-3696	2012
Sawada Y, Sakai M, Yoshikawa T, Ofuji K, <u>Nakatsura T.</u>	A glypican-3-derived peptide vaccine against hepatocellular carcinoma.	OncoImmunology	1(8)	1448-1450	2012
Iwama T, Horie K, Yoshikawa T, Nobuoka D, Shimomura M, Sawada Y, <u>Nakatsura T.</u>	Identification of an H2-K ^b or H2-D ^b restricted and glypican-3-derived cytotoxic T-lymphocyte epitope peptide.	Int J Oncol.	42(3)	831-838	2013

Kojima Y, Hashimoto K, Ando M, Yonemori K, Yamamoto H, Kodaira M, Yunokawa M, Shimizu C, Tamura K, <u>Hosono A</u> , Makimoto A, Fujiwara Y.	Comparison of dose intensity of vincristine, <i>d</i> -actinomycin, and cyclophosphamide chemotherapy for child and adult rhabdomyosarcoma: a retrospective analysis.	Cancer Chemother Pharmacol.	70(3)	391-397	2012
Kojima Y, Hashimoto K, Ando M, Yonemori K, Hirakawa A, Kodaira M, Yunokawa M, Shimizu C, Tamura K, Katsumata N, <u>Hosono A</u> , Makimoto A, Fujiwara Y.	Clinical outcomes of adult and childhood rhabdomyosarcoma treated with vincristine, <i>d</i> -actinomycin, and cyclophosphamide chemotherapy.	J Cancer Res Clin Oncol.	138(7)	1249-1257	2012
<u>Hara J.</u>	Development of treatment strategies for advanced neuroblastoma.	Int J Clin Oncol.	17(3)	196-203	2012
Tajiri T, Souzaki R, <u>Kinoshita Y</u> , Koga Y, Suminoe A, Hara T, Taguchi T.	Implications of surgical intervention in the treatment of neuroblastomas: 20-year experience of a single institution.	Surg Today	42(3)	220-224	2012
澤田雄、 <u>中面哲也</u>	特集：固形がんの免疫・抗体療法－基礎研究の進歩と応用－ Ⅲ. 臨床応用の進歩と展望 1. 免疫療法（免疫細胞療法） Glypican-3などのがん特異的抗原を標的とした免疫療法	日本臨床	70(12)	2136-2141	2012
澤田雄、 <u>中面哲也</u>	特集 消化器がんにおけるワクチン療法 肝細胞がんにおけるがんワクチン療法	G. I. Research	20(2)	51-57	2012
<u>佐藤暁洋</u>	記録/合同シンポジウム「わが国における新規抗がん剤開発の諸問題」-産官学連携をどう進めるか 17. 研究者主導未承認薬試験のサポート体制	腫瘍内科	9(3)	374-378	2012
平成25年度					
Nobuoka D, Yoshikawa T, Takahashi M, Iwama T, Horie K, Shimomura M, Suzuki S, Sakemura N, Nakatsugawa M, Sadamori H, Yagi T, Fujiwara T, <u>Nakatsura T.</u>	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(4)	639-652	2013

Sawada Y, Yoshikawa T, Fujii S, Mitsunaga S, Nobuoka D, Mizuno S, Takahashi M, Yamauchi C, Endo I, <u>Nakatsura T.</u>	Remarkable tumor lysis in a hepatocellular carcinoma patient immediately following glypican-3-derived peptide vaccination: An autopsy case.	Human Vaccines and Immunotherapeutics.	9(6)	1228-1233	2013
Tada Y, Yoshikawa T, Shimomura M, Sawada Y, Sakai M, Shirakawa H, Nobuoka D, <u>Nakatsura T.</u>	Analysis of cytotoxic T lymphocytes from a patient with hepatocellular carcinoma who showed a clinical response to vaccination with a glypican-3-derived peptide.	Int. J. Oncol.	43(4)	1019-1026	2013
Suzuki S, Shibata K, Kikkawa F, <u>Nakatsura T.</u>	Significant clinical response of progressive recurrent ovarian clear cell carcinoma to glypican-3-derived peptide vaccine therapy: Two case reports.	Human Vaccines and Immunotherapeutics.	10(2)	338-343	2014
Sawada Y, Komori H, Tsunoda Y, Shimomura M, Takahashi M, Baba H, Ito M, Saito N, Kuwano H, Endo I, Nishimura Y, <u>Nakatsura T.</u>	Identification of HLA-A2 or HLA-A24-restricted CTL epitopes for potential HSP105-targeted immunotherapy in colorectal cancer.	Oncol. Rep.	31(3)	1051-1058	2014
<u>Kohashi K, Nakatsura T, Kinoshita Y, Yamamoto H, Yamada Y, Tajiri T, Taguchi T, Iwamoto Y, Oda Y.</u>	Glypican 3 expression in tumors with loss of SMARCB1/INI1 protein expression.	Hum. Pathol.	44(4)	526-533	2013
大藤和也、 <u>中面哲也</u>	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	12(2)	122-129	2013
澤田雄、 <u>中面哲也</u>	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法	実験医学(増刊号)	31(12)	66-71	2013
大藤和也、 <u>中面哲也</u>	トピックス 2. 肝臓のワクチン療法	コンセンサス癌治療	12(2)	114-116	2013
平成26年度					
Yoshikawa T, Takahara M, Tomiyama M, Nieda M, Maekawa R, <u>Nakatsura T.</u>	Large-scale expansion of $\gamma\delta$ T cells and peptide-specific cytotoxic T cells using zoledronate for adoptive immunotherapy.	Int. J. Oncol.	45(5)	1847-1856	2014
Ofuji K, Saito K, Yoshikawa T, <u>Nakatsura T.</u>	Critical analysis of the potential of targeting GPC3 in hepatocellular carcinoma.	Journal of Hepatocellular Carcinoma.	1	35-42	2014

Sakaguchi S, Oda M, Shinkoda Y, <u>Manabe A.</u>	Parent's perception of pediatric cancer centers in Japan.	Pediatr Int.	56(2)	196-199	2014
Miyoshi K, <u>Kohashi K</u> , Fushimi F, Yamamoto H, Kishimoto J, Taguchi T, Iwamoto Y, Oda Y.	Close correlation between CXCR4 and VEGF expression and frequent CXCR7 expression in rhabdomyosarcoma.	Hum Pathol.	45(9)	1900-1909	2014
Ofuji K, Tada Y, Yoshikawa T, Shimomura M, Yoshimura M, Saito K, Nakamoto Y, <u>Nakatsura T.</u>	A peptide antigen derived from EGFR T790M is immunogenic in non-small cell lung cancer.	Int. J. Oncol.	46(2)	497-504	2015
Sawada Y, Yoshikawa T, Shimomura M, Iwama T, Endo I, <u>Nakatsura T.</u>	Programmed death-1 blockade enhances the antitumor effects of peptide vaccine-induced peptide-specific cytotoxic T lymphocytes.	Int. J. Oncol.	46(1)	28-36	2015
<u>Kinoshita Y</u> , Tanaka S, Souzaki R, Miyoshi K, <u>Kohashi K</u> , Oda Y, <u>Nakatsura T</u> , Taguchi T.	Glypican 3 Expression in Pediatric Malignant Solid Tumors.	Eur J Pediatr Surg.	25(1)	138-144	2015

IV. 研究成果の刊行物・別刷

4. ペプチドワクチン療法

4.1 はじめに

もう治療がないと言われ、積極的治療が受けられなくなった進行がん患者の多くが民間療法や健康食品などに頼っている中で、免疫療法への期待や需要は大きい。あるいは、再発予防や予防法としての期待も高まっている。免疫療法はがんの第4の治療法と言われて久しいが、残念ながらもまだ標準治療としては確立されていないのが現状である。適切な臨床試験と基礎研究の繰り返しによる科学的根拠に基づいたがん免疫療法の開発の必要がある。本稿では、特にペプチドワクチン療法についての現状について、我々の経験を中心に述べる。

4.2 がんの免疫療法について

がんの免疫療法の概念は既に19世紀からあった。医師たちはがん患者が細菌に感染すると、がんが小さくなる場合があることに気づいていた。そこから生まれたColey's vaccine (toxin)は、時にはがんの完全退縮を得たが、広くは受け入れられなかった。また、がんにはまれではあるが、自然退縮が起こる。これにはおそらく免疫も関与している。1967年ごろには、がん細胞の自家移植の報告がなされている。手術で得られたがん組織からがん細胞をばらばらにして、1万

個、10万個、100万個、1,000万個、1億個とその患者の皮下に移植した結果、進行がんの患者でも1万個は完全に拒絶され、10万個では時に移植が成立し、1億個ではほとんど移植が成立することがわかった。これらの研究結果は、がんに対する免疫の確かな存在と、一方ではその限界も示していると言える。

1991年にBoonらにより、ヒトの免疫系ががんを異物として認識し、排除しうること科学的な根拠が与えられた。すなわち、がん化に関連して特異なタンパクが産生されると、これらに由来するペプチドが、HLAクラスI分子に結合して細胞の表面に発現し、CD8⁺細胞傷害性T細胞（キラーT細胞、CTL）がこれらを識別して活性化され、がん細胞を破壊するというメカニズムが存在する。現在までに、様々ながん拒絶抗原およびペプチドが同定され、世界中で臨床試験が進められている。前立腺がんに対して「Provenge」という樹状細胞療法がFDAに承認され話題になったが、その他にもいくつかの第3相臨床試験での有効性も報告されている。一方では、最近子宮頸がんの予防ワクチンが話題であるが、免疫療法がより有効であるのはがんの再発予防や予防であると考えられ、免疫療法を用いた根治治療後の再発予防法やがん発症予防法の開発も必要である。近い将来、ペプチドワクチンで

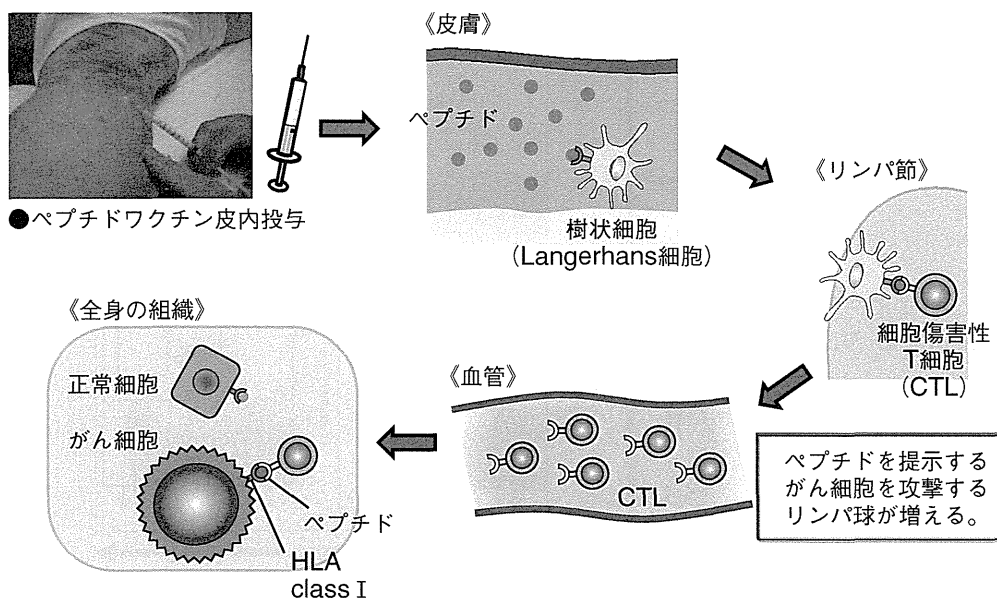


図1 ペプチドワクチン療法のメカニズムの概略

がんを予防する時代が来ることに期待したい。

4.2.1 ペプチドワクチン療法の proof of concept (POC)

ペプチドワクチン療法によりがん細胞を傷害するメカニズムを考えてみると、ペプチドをワクチンとして患者の皮内に注射すると、皮内のランゲルハンス細胞（樹状細胞）表面のHLAにペプチドが載り、その後リンパ節に移動して、リンパ節でペプチドを載せた樹状細胞によって刺激を受けたキラーT細胞（CTL）が活性化し、増え、血流に乗ってペプチドをHLA表面に提示しているがん細胞を攻撃するが、ペプチドを提示していない正常細胞は傷害しないという目で見ることのできない複雑な生体反応である（図1）。逆に言うと、ペプチドワクチンにより、血液中にペプチド特異的CTLが増加して、そのCTLが実際がんの組織の中に浸潤しない限りはがん細胞の傷害、すなわち臨床効果は起こりようがない。即ち、ペプチドワクチン投与後に血液中にペプチド特異的CTLが増えるかど

うか、さらにそのCTLが実際がんの組織の中に浸潤するかどうかを証明することこそが、本療法の“proof of concept (POC)”であり、それすら起こっていないならば臨床効果は起こるはずがない。

4.2.2 Glypican-3 (GPC3) ペプチドワクチンの臨床第I相試験の概要

我々は進行肝細胞がん33例を対象に臨床第I相試験を実施した。1回の投与量を0.3, 1, 3, 10, 30mgの5段階とし、2週間おきに3回、左右の腋窩部、腹部および鼠径部の皮内にIFAと混ぜたエマルジョン製剤を、安全性を確認しながら用量を増して投与した。

33例中、注射時のその日のうちに消失する一過性の潮紅は27例（82%）に認められ、うち2例には一過性の異所性の皮疹、1例には一過性の広範の潮紅を認めた。発熱は37.5℃以上が8例で、うち38℃以上が4例にみられたがいずれも一過性で、解熱剤の使用を要しなかった。注射部の紅斑は33例全例に見られ、うち6例には軽度の搔痒があり、クロタミトン（オイ

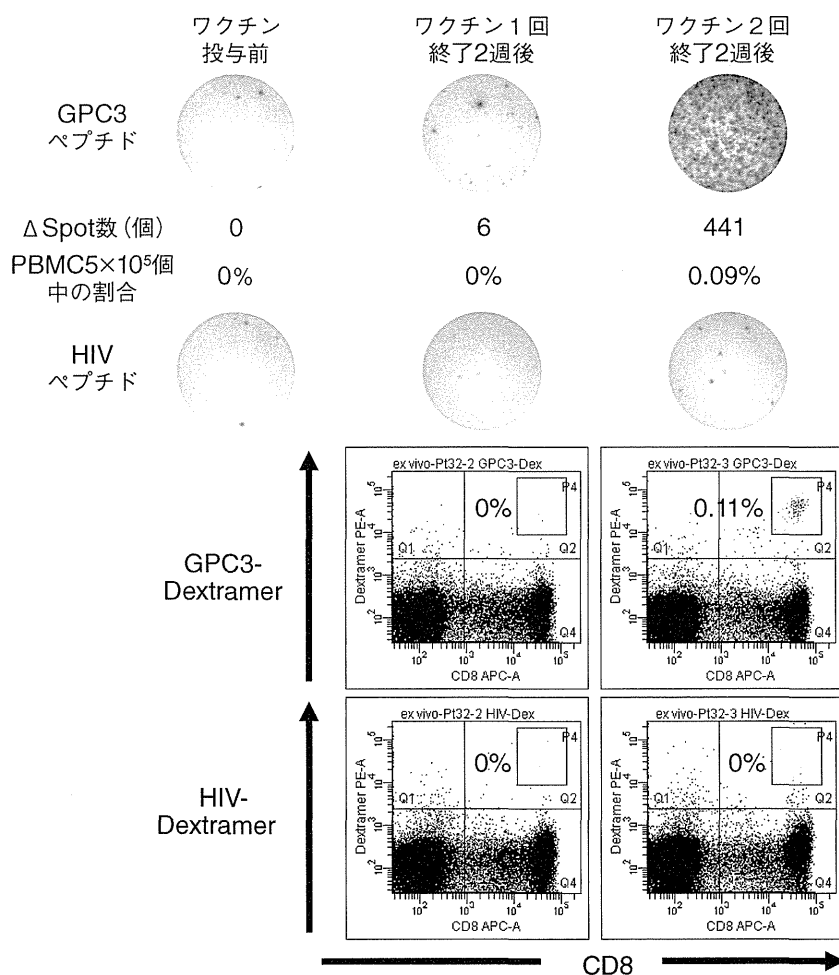


図2 ペプチドワクチン投与前後の末梢血中ペプチド特異的CTLの検出
わずか2回のペプチドワクチンで 10^9 ものGPC3ペプチド特異的CTLが誘導された計算になる。

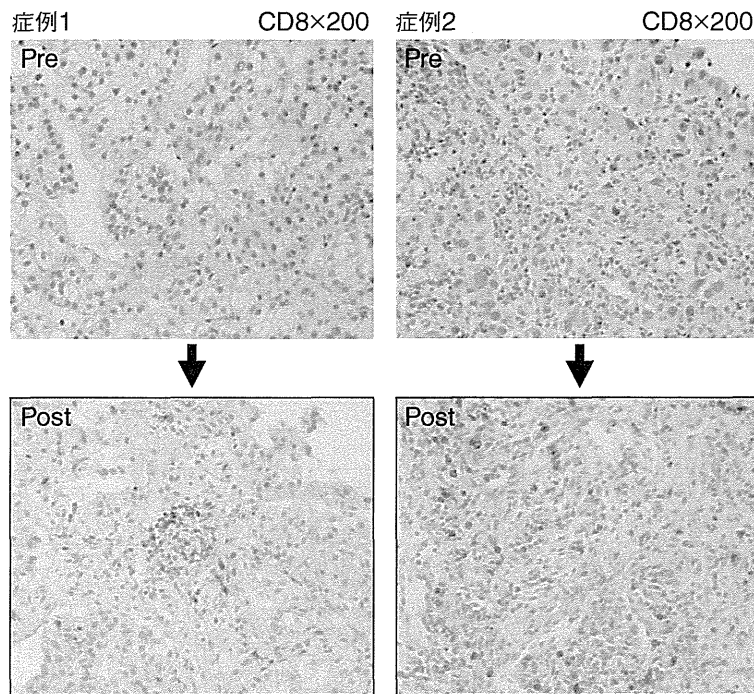


図3 ペプチドワクチン後の腫瘍内に CD8 陽性のキラー T 細胞が多数浸潤 (口絵参照)

ラックス) クリームを処方した。炎症反応を伴う疼痛や腫脹は認められなかった。また、Grade 3 の肝機能障害 (AST、ALT、T-Bil) を 4 例に認めたが、いずれもがんの増悪によるものと判断された。以上、安全性においては問題ないと考えられた。

33 例中 30 例 (91%) に末梢血中ペプチド特異的 CTL の頻度の増加が検出され (図 2)、その頻度は投与量依存性に増加しており、免疫学的反応も確認された¹⁾。7 例ではワクチン後の腫瘍の生検を行い、うち 5 例でワクチン前の腫瘍内には浸潤していなかった CD8 陽性のキラー T 細胞がワクチン後の腫瘍内に多数浸潤している像も観察できた (図 3)。本ペプチドワクチン療法の POC は得られたと考えている。

臨床効果については、3 回のワクチン投与後 1 ヶ月後の CT の RECIST version 1.0 での評価では、33 例中 1 例が PR、18 例が SD (SD 以上 59.4%) で 13 例は PD、1 例は NE (評価できず) であり、5 例には腫瘍内の壊死、一部腫瘍の縮小などの所見も認められた。TTP 中央値は 3.4 ヶ月、全生存期間 OS 中央値は 9 ヶ月であった。

全 33 例の GPC3 ペプチド特異的 CTL 活性と OS の分布図を検討すると、両者に有意な相関 ($p=0.031$) を認めた。さらに OS 中央値では、GPC3 ペプチド特異的 CTL 活性 50 以上群は 12.2 ヶ月、50 未満群は 8.4 ヶ月と有意な差 ($p=0.033$) を認めた。GPC3 ペプチド

特異的 CTL の最大頻度 50 以上 (N=15) または 50 未満 (N=18) の 2 群に分けて検討したところ、臨床背景因子に関しては、2 群間に有意差を認めるものはなく、GPC3 ペプチド特異的 T 細胞の最大頻度 50 以上は OS に対する有意かつ独立した予後因子と考えられた。

4.2.3 日本国内の様々な施設からのがんに対するペプチドワクチンの有効例の報告

米国 NCI の Rosenberg SA らは、2004 年の Nature Medicine がんワクチンの Review として、440 例中 CR、PR の response rate はわずか 2.6% であったと報告した²⁾ が、そのことは 2009 年の米国癌学会でも議論になり、ペプチドワクチン単独では進行がんには劇的な効果はないかもしれないが、生存期間や無増悪期間の延長等の可能性はあり、再発予防にも有効な可能性はある、また様々な免疫抑制分子に対する抗体との併用などに期待が持てるとの意見も多かった。一方、最近日本国内の様々な施設からがんに対するペプチドワクチンの有効例の報告も散見され、今後が期待されている。概要を表 1 に示す。

4.3 おわりに

がん特異抗原を標的とした免疫療法は、理論上重篤な有害事象は起こりえず、有効性さえ証明できれば標準的な治療法や補助療法となりうる可能性がある。また将来的にこれらペプチドワクチン等の免疫療法に

表1 がんペプチドワクチン療法臨床試験の臨床効果の報告

報告施設	がんワクチンの種類	臨床効果	文献
NCI	がんワクチンの Review	440 例中の奏効率はわずか 2.6%	2
大阪大	WT1 ペプチド	骨髄異形成症候群、急性骨髄性白血病、乳がん、肺がん、脳腫瘍などで有効例、GEM と併用で膀胱がんにも有効	3
札幌医大	サバイビン 2B ペプチド	進行大腸直腸がん奏効例	4
久留米大	テーラーメイドがんペプチド	子宮頸がん、大腸がん、脳腫瘍、膀胱がん、前立腺がんでも有効	5
近畿大	CA9 ペプチド	腎がん複数奏効例	6
山口大	KOC1、RNF43、TOMM34、VEGFR1、VEGFR2 の 5 種類のペプチド	大腸がん奏効例	7
山梨医大	TTK、LY6K (URLC10)、IMP-3 (KOC1) の 3 種類のペプチド	食道がん奏効例	8
岩手医大	MPHOSPH1、DEPDC1 のペプチド	膀胱がんでの抗腫瘍効果	9
和歌山医大	VEGFR2 ペプチド	GEM との併用で切除不能進行膀胱がん生存期間延長の期待	10
当院	GPC3 ペプチド	進行肝細胞がん奏効例	1

よりがんの予防法が確立できれば、国内がん患者数の減少に寄与することができ、国民の健康維持に大いに貢献できるものと考えられる。ペプチドワクチンはより安価に提供でき、一般の医療施設でもできる治療である。今後示される有効性によっては、抗がん剤治療に頼ってきたがん治療を大きく変える可能性があり、患者の QOL の改善にとっても大きな役割を果たすものと考えられる。まだまだ越えなければいけないハードルは多いが、今後次々とがんペプチドワクチン療法が薬として承認されることを期待したい。

文献

- 1) Yoshikawa T, et al: *Cancer Sci* **102**: 918-925, 2011
- 2) Rosenberg SA, et al: *Nat Med.* **10**: 909-15, 2004
- 3) Oka Y, et al: *Curr Opin Immunol* **20**: 211-20, 2008
- 4) Tsuruma T, et al: *J Translational Med*, 2004
<http://www.translational-medicine.com/content/2/1/19>
- 5) Yajima N, et al: *Clin Cancer Res* **11**: 5900-11, 2005
- 6) Uemura H, et al: *Clin Cancer Res* **12**: 1768-75, 2006
- 7) 裕 彰一ほか: *Biotherapy* **23** (2): 160-164, 2009
- 8) Kono K, et al: *Cancer Sci* **100**: 1502-1509, 2009
- 9) 小原 航ほか: 膀胱がん 新規腫瘍抗原を利用したワクチン療法、中村 祐輔 編: がんペプチドワクチン療法。中山書店、東京、p63-70, 2009
- 10) Miyazawa M, et al: *Cancer Sci* **101**: 433-439, 2009

(中面哲也)

第1節 がんワクチンにおける臨床試験・治験のデザインと実践 ーアカデミアでのがんワクチン開発の経験ー

はじめに

がん免疫療法は、がんの第4の治療法と言われて久しいが、国内においては標準治療を使い果たした進行がんの患者に試みられることが多く、科学的エビデンスが十分に検証されない状況であった。しかし、がんワクチン療法 Sipuleucel-T (Provenge[®]) の第Ⅲ相臨床試験での有効性の報告¹⁾、米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) での承認から、その開発は再び大きな期待が持たれている。本邦においては、ペプチドワクチン療法を中心に医師主導型臨床試験が多く行われ、その中のいくつかでは有望な結果が評価され、企業主導の治験が進んでいる。また FDA のがん治療用ワクチンのガイダンスでは、がんワクチン療法はその作用機序から、従来の抗がん剤と異なる臨床試験デザインを考慮する必要があることを述べられている²⁾。本稿では、FDA ガイダンスの内容の一部を紹介し、がんワクチン臨床試験のデザインに関して我々の考察を加える。また国内を中心にがんワクチンの開発における臨床試験・治験の現状と我々の行ったアカデミアでのがんワクチン開発の概要について述べる。

1. 本邦でのがんワクチン開発の経緯

1991年に Boon らにより、ヒト悪性黒色腫のがん抗原が同定され、ヒトの免疫系が、がんを異物として認識し排除しうることに科学的な根拠が与えられた³⁾。以降、様々ながん拒絶抗原およびペプチドが同定され、本邦でも1999年にペプチドワクチンの臨床試験が久留米大学で開始され、我々を含めアカデミア主体での多くのペプチドワクチンの医師主導臨床試験が行われている。

ここでペプチドワクチン療法の作用メカニズムを説明する。がん抗原由来のペプチドを、ワクチンとして患者の皮内・皮下に注射すると、皮内・皮下の抗原提示細胞表面のヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen : HLA) にペプチドが結合する。その後、ペプチドを載せた抗原提示細胞によって刺激を受けたキラー T 細胞 (cytotoxic T lymphocyte : CTL) が活性化及び増殖する。このペプチドと HLA の複合体に反応するように活性化した CTL は、がん抗原由来ペプチドを HLA 表面に提示しているがん細胞を攻撃するという機序である。

近年になるまで国内製薬企業が、がんワクチンの開発、臨床試験に携わらなかったのは、まず免疫療法自体が、そもそも有望な治療法と思われて来なかったことや免疫療法の概念実証 Proof of Concept (POC) の欠如がブレーキをかけてきたと推察される。ペプチドワクチンは初めて科学的根拠をもって開発された免疫療法であったが、当初のペプチドワクチンの第Ⅰ相の臨床試験は従来の抗がん剤と同じく、もう治療法のないそもそも有効性を証明することが難しい進行がんを対象として実施されてきたため、却って失望感を与えてしまった。また米国 NCI の Rosenberg SA らのがんワクチンの奏効率はわずか 2.6% という報告がさらに追い討ちをかけた⁴⁾。この点に関しては、我々も含めた日本各地のグループから有効例の報告も増えてきて、その結果、国内の製薬企業の参画、企業治験の実施が行われるようになった。また免疫モニタリング法などにより、ペプチドワクチン療法の POC が証明されつつあることや、医師主導の臨床研究においても、客観的な臨床的有用性を証明するため十分に計画されたプロトコールで行うようになったためと思われる。製薬企業が本気で参画して開発するかどうか、今後のがんワクチン市場がどうなっていくかの鍵となっている。

そのためには、現時点では我々を含めて日本全国で展開されている医師主導の臨床試験でどれだけの説得力のあるエビデンスを出せるかが一番重要であり、必須であると考えている。本来製薬企業が Phase 0 のところから開発に関わって Phase I から治験で行えればもちろん理想的である。臨床試験と基礎研究での適切な科学的根拠に基づいたがんワクチンの開発はアカデミア主体で行われてきたが、日本ではまだまだ開発体制も不足しており、現場の医師や研究者が苦勞して医師主導の臨床試験を実施しているのが現状である。

2. がん治療用ワクチンの各ガイダンス^{2,5)} からみる開発, 臨床試験計画の留意点

FDA は, 2009 年 9 月にがん治療用ワクチンに対する臨床的考察としての企業向けガイダンスードラフト版を発表し, 2011 年 10 月に最終版を発表するに至っている²⁾。また日本バイオセラピー学会よりがん治療用ペプチドワクチンガイダンス (案) が公開され, 広くパブリックコメントを求めている⁵⁾。

各ガイダンスとも, がんワクチン開発, 臨床試験計画に関して, 参考にすべき点が多々あり, その一部を紹介し, 我々の考察を加える。

2.1 非臨床安全性試験

日本バイオセラピー学会ガイダンス (案) 「ペプチドワクチンにおいては, 非臨床安全性試験においては適切な動物種は存在しないと考えられる」と記載があるとおおり, ヒト型の主要組織適合抗原 (major histocompatibility complex : MHC) を模したトランスジェニックマウスは存在するものの, そのペプチドワクチンで誘導した CTL やその CTL がターゲットとする治療標的への抗腫瘍免疫応答, あるいは自己免疫現象といったものを, ヒトでの免疫応答のモデルとして完全に再現することは, 現時点では不可能と考えられる。ただし日本バイオセラピー学会ガイダンス (案) では, 薬理的活性表現とは別に, 試験範囲として, ペプチド原薬の意図しない不純物などの有害作用をみるための安全性薬理試験, 2-4 週間の反復投与試験, 局所刺激性試験などを挙げている。

筆者らは, ペプチドが, 生体内においてダイペプチダーゼなどにより急速に分解されることを確認しており, アジュバントと混合した場合も含めて, 治験を行うペプチド毎に, その都度莫大な費用をかけて様々な GLP 準拠下での前臨床試験を行う必要はないと考えている。我々は, 医師主導治験の開始にあたっての医薬品医療機器総合機構 (Pharmaceuticals and Medical Devices Agency : PMDA) との対面助言でも同様の主張を行った。PMDA からは, ペプチド原薬の意図しない不純物などの有害作用をみるための安全性薬理試験だけは必要という助言を受け, 結果としては, 非臨床試験の実施を全くしなくてよいという許可は得ることができなかった。しかし, 治験開始時に不必要な非臨床試験を行わないことに関して, 一定の理解を得ることができたと考えている。

米国 FDA, 欧州医薬品庁 (European Medicines Agency : EMA), シンガポール健康科学庁 (Health Sciences Authority : HSA) などの海外の規制当局では, 前臨床試験を実施せず臨床試験の実施を許可するケースもあり, 前述の Sipuleucel-T (Provenge[®]) では, 非臨床試験のデータなく, 別の形でデータを提示することで承認にいたっている。海外規制当局でのがんワクチン療法の治験開始・承認申請にあたっての前臨床試験の位置づけがより明確化されることで, 今後本邦においてもがんワクチンの前臨床試験の位置づけが定まると思われる。そしてペプチドワクチンに至っては, これまでの抗がん剤で行われてきた非臨床安全性試験はほとんど省略できると考えている。

2.2 増量試験

FDA ガイダンスには「がんワクチン臨床試験における臨床開始用量と用量設定の決定には, 前臨床試験とあるいは (and/or) これまでのヒトでの経験に基づくべきである」「がんワクチンがこれまでのヒトでの臨床試験において投与されてきた種類のものであれば, 安全性やアクティビティは確立されている可能性がある。このような状況では, 利用可能な臨床データ次第で, 開始用量や投与計画を設定するうえでの追加の前臨床試験は必要がない」と記載されており, 前述のとおり動物で開始用量を決定することは理論的にも現実的にも不可能であるので, 他の臨床試験のデータをもとにした開始用量の設定も許容されることが考えられる。

また, 「多くのがんワクチン臨床試験は 3 + 3 デザインが用いられてきたが, 非常にまれな状況を除き最大耐量 (maximum tolerated dose : MTD) は認められていない。これらの臨床試験では, 用量-毒性曲線は平坦であるので, 考えられる最も高い用量は, 毒性よりも, 製造上または投与部位の解剖学的な問題に起因する可能性がある」と記載してある。毒性をみるための用量増加試験は意味がないと考えるべきであるが, 第 II 相試験に向けての推奨投与量を決定するための適切なデザインをどうするかが今後の課題である。

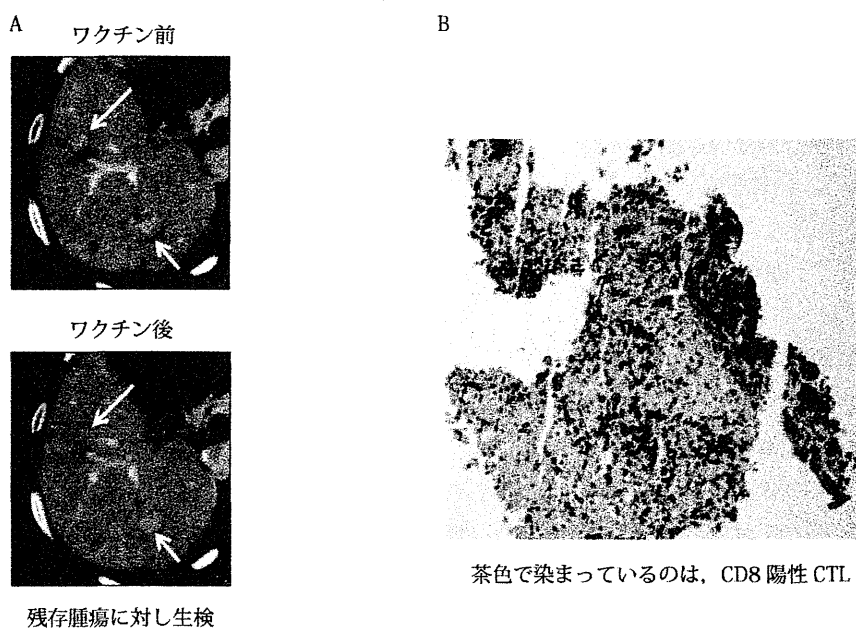
2.3 対象となる患者集団

FDA ガイダンスで「残存病変がない、腫瘍があったとしても少量の患者を対象にしたがんワクチン臨床試験は、ワクチンが抗腫瘍免疫応答をおこすのに十分な時間が確保できる」とあるとおり、進行がんを対象とした場合、病状悪化までの期間が短く抗腫瘍免疫応答が得られない可能性もあり、腫瘍量の少ない患者や術後補助療法が、がんワクチンの適応と考えられてきた。ペプチドワクチン単独での有効性を示すためには、よりがんの量が少ないところを対象にして早期臨床試験を行いたいものである。しかしワクチン療法に限らず、腫瘍量の少ない患者や残存病変のない患者では、多くの費用、症例数と時間がかかってしまうため、早期臨床試験を行うことは困難であるのが現状である。また早期臨床試験で進行がんに対する抗腫瘍効果のデータが乏しい状態で、術後補助療法としての臨床試験を行うことは、倫理面も含めて議論の余地があるところである。

我々は、肝細胞がんの初回手術予定の患者を対象とした術前・術後ワクチン療法の臨床試験を計画している。術前・術後ワクチン投与の臨床試験は、術後ワクチン療法のがん再発抑制効果を評価するほかに、術前の比較的腫瘍量の少ない患者を対象にした際のワクチン療法の奏効率や、手術検体の腫瘍浸潤リンパ球を解析によりワクチン療法の Proof of Concept (POC) を得ることができる。しかし、外科医も未承認薬の術前投与は慎重な姿勢で現在実現していないが、我々は副作用がほとんどないワクチン療法だからこそ可能な最適な臨床試験と主張しており、今後の実現に向けて調整を図っている。

2.4 試験デザイン

日本バイオセラピー学会ガイダンス(案)「早期探索試験での腫瘍縮小効果が得られない症例でも生命予後延長が得られる可能性があり、早期探索試験をデザインする上で考慮されるべきポイントである」とあり、この内容がもっとも従来の抗腫瘍薬の臨床試験のデザインと異なる、と筆者らは考えている。Long SD (長期間の不変) が CTL による抗腫瘍効果によるものなのか、腫瘍の自然特性をみているだけで意味のないものなのか様々な議論はある。しかし筆者らは、ペプチドワクチン投与後、少ない症例ながらも腫瘍の腫瘍径が一度増大した後縮小をきたした症例や、縮小効果はないものの生検で多数の CD8 陽性 CTL の腫瘍内への浸潤を認めた症例を経験している(図 1)。筆者らの仮説ではペプチドワクチンが抗腫瘍効果を呈する場合 CTL の腫瘍内浸潤は必須であり、このような症例は腫瘍に CTL が浸潤する



A. ワクチン投与前後の CT 画像。肝内腫瘍の一部に消失を認め、残存した腫瘍に対し生検を行った。
B. 生検組織の CD8 免疫染色。残存を認めた腫瘍の中に、多くの CD8 陽性 CTL が、浸潤していた。

図 1 GPC3 ペプチドワクチン臨床第 1 相試験での部分奏功症例 Sawada Y et al, 2012 より改変引用⁹⁾

からこそ観察されるものと考えている。従来の Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST) 評価では、当然このような現象は想定範囲外である。最近、肝細胞がんでの治療評価に modified RECIST が提唱されているが、これは画像上造影効果のある腫瘍部位を viable と評価してその径を評価する方法である⁶⁾。肝細胞がんでは治療後も腫瘍径として変化はないが、造影効果の変化が生じることが多々あるといった腫瘍特性に沿った評価法である。このように、ペプチドワクチン療法でも、その特性に沿った評価が必要であり、現時点では RECIST は、ペプチドワクチン療法の特性に沿った（たとえば CTL の浸潤までも評価する）画像評価とはいえない。抗腫瘍効果をきたした免疫療法での様々な知見の増加から（腫瘍が大きくなったあと小さくなる、長期間の SD の後に消失など）、免疫学的評価基準 (Immune-related Response Criteria ; irRC) の設定が提唱され、従来の RECIST 評価で PD であっても、免疫学的評価基準の irPR, irSD であれば生命予後は十分期待できる⁷⁾。今後これらの評価方法が確立すると思われるが、現在のところ免疫療法における早期探索試験では、生命予後的指標をエンドポイントとするべきと考えられる。

検証試験はランダム化比較試験で行われ、評価項目は、全生存期間 (Overall survival : OS), 無病生存期間 DFS (Disease free survival : DFS) にあることは従来の化学療法と変わらないと考える。また化学療法薬などと併用する場合、無増悪生存期間 (Progression free survival : PFS) も評価項目になるが、前述のとおりその解釈は困難が予想される。検証試験の方法として、ワクチンの効果がより期待できる腫瘍量の少ない患者を対象に、ファーストラインで抗がん剤や分子標的薬等との併用でワクチンを用い、ワクチン有り無しで OS に差を出すといった方法も考えられる。また現在のワクチン単独療法の奏効率では、適切な患者集団を選択できるバイオマーカーがなければ第Ⅲ相試験の実施は難しいと言われている。しかし、がん種によってはそもそも抗がん剤の奏効率が高いといえないものもあり、そのような抗がん剤との比較試験で、十分 OS に差を出すことは可能でないかと感じている。抗がん剤を使いきって全身状態の悪化した患者にワクチンを使用して OS を伸ばすことを検証するのは難しいかもしれないが、ワクチンの副作用がほとんどないことを勘案すると、これらの患者にこそワクチン療法の意義があるのではないかと考えている。

また HLA 拘束性ペプチドを、当該 HLA を保有する患者のほか、非当該 HLA を持つ患者に対象群として投与し、HLA を盲検化した HLA-key open 法による試験デザインは、ペプチドワクチンの特性を生かした有用な早期探索試験の方法と考えられている。検証試験としては、HLA のバイアスの可能性、CTL のクロスリアクションによる影響の可能性などが課題として挙げられる。

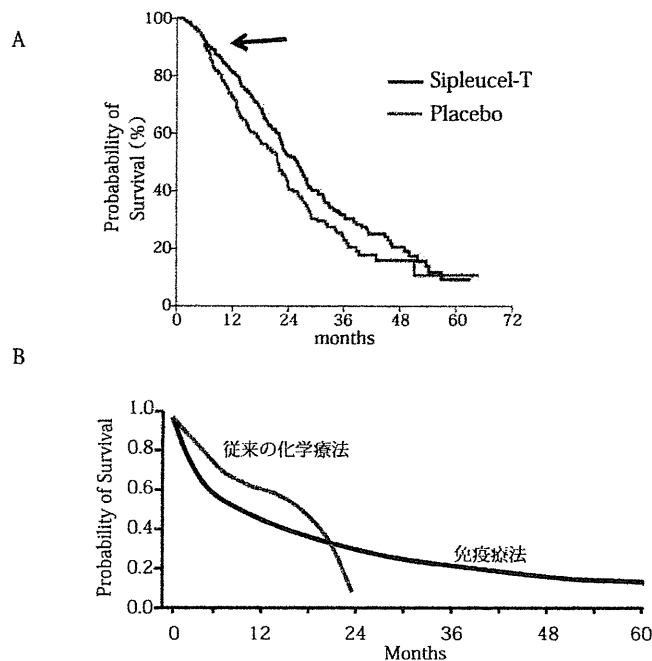
2.5 免疫モニタリング

FDA ガイダンス「早期臨床試験において免疫モニタリングは、提唱された薬理作用の概念実証の確立や投与抗原の免疫原性を示すために行うべきと考える。また抗腫瘍免疫応答のモニタリングに、2つ以上の免疫モニタリング方法を用いることが推奨される」とあり、免疫モニタリングで得られた結果と臨床効果の関連を示すことが、がん免疫療法の POC になると考えられ、抗腫瘍免疫応答のモニタリングは高いレベルで求められている。

2.6 効果発現の遅延とその解析

FDA ガイダンス「がんワクチンの遅延効果のため、生存曲線は治療後早期には差を示さないが、もしがんワクチンに治療効果がある場合は、後期に曲線の分離が起こることが観察される。統計手法を選択する際、比例ハザード仮説に当てはまらない可能性を考慮する必要がある」とあり、がんワクチン療法では、治療群とコントロール群生存曲線の分離が介入後しばらくした後に観察される (図 2A)。また日本バイオセラピー学会ガイダンス (案) では、ワクチンの遅延効果によりハザード比が経過中変化する場合、観察期間後期に重みづけを置く、Harmington-Fleming 検定などを用いることを考慮している⁵⁾。一方従来の化学療法薬でも、生存曲線の分離が、後期に現れることがあり、がんワクチンの臨床試験に限って異なる統計解析を行うことは、正しくないという意見もある。しかし後期に重みづけを置くのは、長期生存が見られる免疫療法の特性 (図 2B) を含め、解析を行うという意味であり妥当性はあると考える。また筆者らは、生存曲線が後期になって分離する現象は、介入してもまったく変わらない対象かつ早期に死亡する症例 (すなわち高度進行がん) が多く存在することに起因すると考えている (通常の化学療法薬の臨床試験でも生じるが、がんワクチンは遅延効果の側面もあり如実に現れる)。現時点のがんワクチンの臨床試験は、高度進行がんには効果をだすのは

難しいかもしれないが、一部の患者に効果があることは間違いがなく、適切な患者集団に行うことができれば、容易に統計学的な有意な差を証明し得ることを示しているともいえるのではないかと考えている。



- A. IMPACT study における生存曲線では、プラセボ投与群とがんワクチン投与群の生存曲線の乖離が、矢印の時点で起きている。Kantoff PW et al, 2010 より改変引用¹⁾。
- B. 化学療法と免疫療法について模式的に示した生存曲線。従来の化学療法は、奏功後の再発も見られるが、免疫療法では完全奏功、長期生存の可能性を認める。

図2 がんワクチン療法における生存曲線

3. アカデミアでのがんワクチン開発の経験

我々は、これまで肝細胞がんに対して、GPC3 由来ペプチドワクチン療法の医師主導臨床試験を行ってきた⁸⁻¹⁴⁾。基礎研究からのトランスレーショナルリサーチとしての臨床試験という形であったが、幸いに製薬会社への導出という結果につなげることができた我々の経緯を紹介する。

また製薬会社への導出後も、GPC3 ペプチドワクチンの医師主導臨床試験は継続しており現在施行中の臨床試験についても紹介する。

3.1 GPC3 ペプチドワクチン療法の基礎研究および前臨床試験

我々は、東京大学医科学研究所・ヒトゲノムセンター（中村祐輔教授：現シカゴ大学）との共同研究により、cDNA マイクロアレイのデータを基に、肝細胞がんにて特異的な新規がん胎児性抗原として GPC3 を同定した¹⁵⁾。免疫療法の理想的な標的と考え日本人の約 60% が陽性である HLA-A24 拘束性 GPC3 由来ペプチドを同定し、同様に日本人の約 40% が陽性で、欧米人のメジャータイプである HLA-A2 拘束性 GPC3 由来ペプチドも同定した¹⁶⁻¹⁸⁾。またマウスを用いた実験において、GPC3 抗原の免疫によって、ペプチド特異的 CTL が誘導され、抗腫瘍効果は認められたが、自己免疫現象を誘導しないという実験結果を得ることができた^{17,18)}。

このペプチドを用いた臨床試験を計画するにあたり、従来の前臨床試験にあたるものであるが、ペプチド投与開始量を決定するための最善のプロトコール作成のための実験を行った。当時ペプチド投与量について、免疫応答の強弱はペプチド量には依存しないといった報告はある一方、従来の抗がん剤の試験デザイン同様、臨床試験では 3 + 3 デザインで容量制限毒性の有無を調べるスタイルであった。そこでペプチド投与量によって免疫応答の誘導能に相違が見られ