

平成 21 年 5 月 10 日現在

研究種目：基盤研究 (B)  
 研究期間：2005～2008  
 課題番号：17390441  
 研究課題名(和文) 尿路上皮癌に対するサバイピン・ペプチドを用いた癌ワクチン療法の確立  
 研究課題名(英文) Establishment of survivin-derived peptide vaccination for patients with urothelial cancer  
 研究代表者  
 塚本 泰司 (TSUKAMOTO TAIJI)  
 札幌医科大学・医学部・教授  
 研究者番号：50112454

研究成果の概要：尿路上皮癌においてサバイピンが高率に発現し、かつ癌抗原として患者の免疫系に認識されていた。進行尿路上皮癌患者に対するサバイピン・ペプチドワクチン療法の臨床第一相試験を行い、安全性を確認し得た。また一部の患者では免疫学的・臨床的反応が認められた。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	7,200,000	0	7,200,000
2006 年度	3,000,000	0	3,000,000
2007 年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2008 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
年度			
総計	15,100,000	1,470,000	16,570,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・泌尿器科額

キーワード：尿路上皮癌、免疫療法、がん抗原、サバイピン

## 1. 研究開始当初の背景

進行尿路上皮癌患者に対するがん化学療法を補助する全身療法の確立が急務である。また非筋層浸潤膀胱癌および上皮内癌に対しては、治療および再発予防目的に BCG や抗がん剤を用いた膀胱腔内注入療法が行われているが、これを凌駕する治療法が望まれている。

## 2. 研究の目的

尿路上皮癌患者に対する新規がん免疫療法を開発する。

## 3. 研究の方法

- 1) 尿路上皮癌におけるサバイピンの発現を免疫組織学的に検討し、臨床病理学的データとの比較を行う。
- 2) 尿路上皮癌における HLA class I 抗原の発現を免疫組織学的に検討し、臨床病理学的データとの比較を行う。
- 3) MHC class I 分子に接着するサバイピン・ペプチドを合成し、患者リンパ球からサバイピン特異的 CD8<sup>+</sup> T 細胞を誘導し、がん細胞傷害性を検討する。
- 4) 進行尿路上皮癌患者を対象としたサバイピン・ペプチドワクチン臨床第 I 相試験を

行う。

- 5) 腎細胞癌および前立腺癌に対するがんワクチン療法に向けた基礎研究を行う(尿路上皮癌で行ってきた基礎検討を前立腺癌、腎細胞癌にも対象を広げ検討する)。

#### 4. 研究成果

##### 1) 膀胱癌におけるサバイビンの発現

2002-2003年に当科で施行した膀胱癌手術標本におけるサバイビンの発現を免疫組織学的に検討した。非筋層浸潤癌(NMIBC)、筋層浸潤癌(MIBC)、上皮内癌(CIS)のいずれにおいても、サバイビンは高率(80%以上)に発現していた(表1)。患者血清中には抗サバイビン抗体が、また末梢血中にはサバイビン特異的CD8<sup>+</sup>T細胞が認められ、サバイビンの抗原性も確認された。

##### 2) 膀胱癌におけるHLA class I抗原の発現

上記と同様に手術標本中の癌細胞におけるHLA class I発現を免疫組織学的に検討した。全体として36%にHLA class Iの発現低下が認められた(表1)。またBCG膀胱腔内注入療法を施行した症例の検討では、膀胱癌細胞におけるHLA class Iの発現が低下した症例は治療が効きにくいことが明らかとなった。

	n	Survivin pos (%)	HLA I pos (%)	Survivin and HLA I pos (%)
NMIBC	53	47 (89)	35 (66)	34 (64)
MIBC	21	20 (83)	16 (67)	14 (58)
CIS	11	10 (91)	8 (73)	8 (73)
total	88	77 (88)	59 (67)	56 (64)

表1 膀胱癌におけるサバイビンおよびHLA class Iの発現

##### 3) サバイビン・ペプチドの有用性

日本人に最も多いHLA-A24拘束性のサバイビンペプチドを開発した。HLA class I分子に強力に結合するsurvivin 2Bペプチドを選定した。

続いて患者末梢血より採取したリンパ球をこのペプチドで刺激し、サバイビン陽性の標的細胞を傷害する試験を行った。その結果、26例中22例(85%)でペプチド特異的な細胞

傷害性T細胞が誘導された。

##### 4) 進行尿路上皮癌患者を対象としたサバイビン・ペプチドワクチン臨床第1相試験

survivin 2Bペプチドを用いて、9名の進行尿路上皮癌患者にがんワクチン療法を施行した(表2)。計46回のワクチン投与が行われ、5名においてペプチド特異的細胞傷害性T細胞が誘導された。本治療による重篤な有害事象は認められず、安全性に関しては問題がなかった。

Pt	Peptide dose	Adverse events	Tetramer-positive CTL	RR
1	0.1 mg x 6	Induration	Increased	19% (SD)
2	0.1 mg x 6	Induration	Increased	18% (SD)
3	0.1 mg x 2	None	NA	NA
4	0.1 mg x 6	Induration	No change	53% (PD)
5	1.0 mg x 3	None	NA	NA
6	1.0 mg x 6	Induration	No change	68% (PD)
7	1.0 mg x 5	Induration	Increased	NA
8	1.0 mg x 6	Induration	Increased	88% (PD)
9	1.0 mg x 6	None	Increased	81% (PD)

表2 進行尿路上皮癌患者に対するサバイビン・ペプチドワクチン療法の臨床経過

注: Induration, 注射部の皮下硬結(いずれもgrade 1); CTL, cytotoxic T lymphocyte; NA, not available; RR, reduction rate

##### 5) 腎細胞癌・前立腺癌に対する新規免疫療法樹立に向けた基礎研究結果

多数例での免疫組織学検討において、腎細胞癌の38%、前立腺癌の74%でHLA class Iの発現低下が認められた。

腎細胞癌においては、HLA class I分子の発現低下が予後不良因子であった。DNAマイクロアレイによる正常および腫瘍組織サンプルの遺伝子発現プロファイルデータベースを解析し、癌組織選択的に発現する遺伝子(HIF-PH3)を同定した。サバイビンと同様の手法でHIF-PH3の抗原性を明らかにし、さらにペプチドの選定および細胞傷害試験を行

い、腎細胞癌に対する新規免疫療法となり得る可能性が示唆された。

前立腺癌においては、HLA class I 発現低下率が高く、従来の MHC class I 拘束性ペプチドワクチン療法の有効性が疑問視される結果が得られた。HLA class I の発現が低下していた癌細胞のほとんどにおいて、2-MG の発現が低下していた。細胞株を用いた実験では、2-MG のヒストン脱アセチル化によるエピジェネティックな異常により、HLA class I の発現が低下していることが明らかとなった。ヒストン脱アセチル化酵素阻害剤 (HDAC inhibitor) により HLA class I 発現の増強効果を認め、免疫療法と HDAC inhibitor の併用療法の有用性が示唆された。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計8件)

- 1) Honma I, Kitamura H, Torigoe T, Takahashi A, Tanaka T, Sato E, Hirohashi Y, Masumori N, Tsukamoto T, Sato N. Phase I clinical study of anti-apoptosis protein survivin-derived peptide vaccination for patients with advanced or recurrent urothelial cancer. *Cancer Immunol Immunother*. 2009 Mar 18. [Epub ahead of print] 査読有り
- 2) Kitamura H, Tsukamoto T. Prognostic biomarkers of RCC: recent advances. *Int J Urol* 2008; 24: 10-15. 査読有り
- 3) Sato E, Torigoe T, Hirohashi Y, Kitamura H, Tanaka T, Honma I, Asanuma H, Harada K, Takasu H, Masumori N, Ito N, Hasegawa T, Tsukamoto T, Sato N. Identification of an Immunogenic CTL Epitope of HIFPH3 for Immunotherapy of Renal Cell Carcinoma. *Clin Cancer Res* 2008;14:6916-23. 査読有り
- 4) Kitamura H, Honma I, Torigoe T, Hariu H, Asanuma H, Hirohashi Y, Sato E, Sato N, Tsukamoto T. Expression of livin in renal cell carcinoma and detection of anti-livin autoantibody in patients.

*Urology* 2007; 70: 38-42. 査読有り

- 5) Kitamura H, Honma I, Torigoe T, Asanuma H, Sato N, Tsukamoto T. Down-regulation of HLA Class I Antigen Is an Independent Prognostic Factor for Clear Cell Renal Cell Carcinoma. *J Urol* 2007; 177: 1269-72. 査読有り
- 6) Kitamura H, Torigoe T, Asanuma H, Honma I, Sato N, Tsukamoto T. Down-regulation of HLA Class I Antigens in Prostate Cancer Tissues and Up-regulation by Histone Deacetylase Inhibition. *J Urol* 2007; 178: 692-6. 査読有り
- 7) Kitamura H, Torigoe T, Honma I, Asanuma H, Nakazawa E, Shimozawa K, Hirohashi Y, Sato E, Sato N, Tsukamoto T. Expression and antigenicity of survivin, an inhibitor of apoptosis family member, in bladder cancer: implications for specific immunotherapy. *Urology* 2006; 67: 955-959. 査読有り
- 8) Kitamura H, Torigoe T, Honma I, Sato E, Asanuma H, Hirohashi Y, Sato N, Tsukamoto T. Effect of human leukocyte antigen class I expression of tumor cells on outcome of intravesical instillation of bacillus Calmette-Guerin immunotherapy for bladder cancer. *Clin Cancer Res* 2006; 12: 4641-4. 査読有り

[学会発表](計8件)

- 1) Honma I, Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Sato E, Takahashi A, Taguchi K, Masumori N, Itoh N, Sato N, Tsukamoto T. <Workshop: Urothelial Cell Cancer> Phase I clinical study of anti-apoptosis protein, survivin-derived peptide vaccine therapy for patients with advanced or recurrent urothelial cancer. 第96回日本泌尿器科学会総会、2008年4月、横浜
- 2) 佐藤英次、鳥越俊彦、廣橋良彦、本間一也、北村 寛、中津川宗秀、井野田智子、桐山賢二、舛森直哉、伊藤直樹、塚本泰司、佐藤昇志. HIF prolyl hydroxylase 3

(HIFPH3)を標的とした腎細胞癌に対する新規癌免疫療法開発に向けた基礎的研究. 第96回日本泌尿器科学会総会、2008年4月、横浜

- 3) Honma I, Kitamura H, Torigoe T, Hirohashi Y, Shimozawa K, Takahashi A, Sato E, Takahashi A, Taguchi K, Masumori N, Itoh N, Sato N, Tsukamoto T. Phase I clinical study of anti-apoptosis protein, survivin-derived peptide. Vaccine therapy for patients with advanced or recurrent urothelial cancer. 第102回アメリカ泌尿器科学会、2007年5月、アナハイム(カリフォルニア)
- 4) 本間一也. [ワークショップ]新規腫瘍マーカーの臨床応用:新規単クローン抗体による泌尿器癌におけるHLA class I down-regulation解析と臨床所見. 第95回日本泌尿器科学会総会、2007年4月、神戸
- 5) 北村 寛、鳥越俊彦、浅沼広子、本間一也、佐藤英次、舛森直哉、佐藤昇志、塚本泰司. 前立腺癌におけるHLA class I down-regulationと免疫逃避. 第15回泌尿器科分子・細胞研究会、2006年2月、京都
- 6) 北村 寛、鳥越俊彦、本間一也、佐藤英次、中澤恵実理、廣橋良彦、浅沼広子、塚本泰司、佐藤昇志. 病理標本で解析し得る新規単クローン抗体EMR8-5を用いた泌尿器科悪性腫瘍HLA class I発現の検討. 第35回日本免疫学会総会、2005年12月、横浜
- 7) 北村 寛、鳥越俊彦、浅沼広子、本間一也、佐藤英次、廣橋良彦、中澤恵実理、高橋敦、舛森直哉、塚本泰司、佐藤昇志. 新規開発単クローン抗体によるHLAクラスI final output解析と膀胱癌BCG局所注入療法の有効性の相関. 第64回日本癌学会総会、2005年9月、札幌
- 8) 北村 寛、鳥越俊彦、本間一也、浅沼広子、小林淳一、真野佳典、中澤恵実理、佐藤英次、塚本泰司、佐藤昇志. 膀胱癌におけるIAP family分子survivinの発現と抗原性の解析. 第9回基盤的癌免疫研究会、2005年7月、東京

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

塚本 泰司 (TSUKAMOTO TAIJI)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号:50112454

### (2)研究分担者

佐藤 昇志 (SATO NORIYUKI)  
札幌医科大学・医学部・教授  
研究者番号:50158937

舛森 直哉 (MASUMORI NAOYA)  
札幌医科大学・医学部・准教授  
研究者番号:20295356

田中 俊明 (TANAKA TOSHIKI)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号:50398327

高橋 敦 (TAKAHASHI ATSUSHI)  
札幌医科大学・医学部・講師  
研究者番号:20274946

(H18.3.31で本学を退職したために、分担研究者から外れた。)

本間 一也 (HONMA ICHIYA)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号:20404676

(H20.3.31で本学を退職したために、分担研究者から外れた。)

佐藤 英次 (SATO EIJI)  
札幌医科大学・医学部・研究員  
研究者番号:30404677

(H20.3.31で本学を退職したために、分担研究者から外れた。)