

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：「効果的な複合免疫療法の確立」（オンコアンチゲン由来ペプチドワクチンにおけるバイオマーカーの検証と治療戦略の構築）
2. 研究開発代表者： 裕 彰一（国立大学法人山口大学大学院医学系研究科）
3. 研究開発の成果

山口大学消化器・腫瘍外科学と近畿大学外科学（並びに慶應義塾大学先端研）との共同研究により、両大学で施行した5種類の大腸癌ペプチド療法（主には、大腸癌標準療法＋ペプチド療法第Ⅱ相試験（FXV study）の臨床結果と血液や腫瘍などの検体を用いて、免疫療法の効果を予測するバイオマーカーの検証と、新規マーカーを探索するための網羅的解析を行った。

バイオマーカーとして、5種類全ての臨床試験を用いた解析で、治療前のリンパ球% $\geq 15\%$  ( $p < 0.001$ )、好中球/リンパ球比 $< 5$  ( $p < 0.001$ )、CRP $< 1$  mg/dl ( $p < 0.001$ )並びに IL-6 $< 2$  pg/ml ( $p < 0.001$ )が患者の良好な予後を予測するバイオマーカーであることが検証された。また、FXV study 治療前の血漿中 miR-6826 低値症例、血漿中 miR-6875 低値症例、血漿セルフリーDNA 比(400/100-bp)が低い症例、はペプチドワクチン療法の良い適応になると考えられ、血漿中 miR-6826、miR-6875、セルフリーDNA 比(400/100-bp)は免疫療法のバイオマーカーになると考えられた(特願 2016-76990)。

探索的研究として、FXV study 治療前のがん組織中に多く認めた TCR シークエンスを末梢血中には同定できなかったが、治療後のがん組織中に多く認めたシークエンスをわずかながら末梢血中にも同定できた。末梢血中の TCR の多様性が大幅に減少した患者において PFS が長い傾向があった。すなわち、がん組織中の TCR クロノタイプは末梢血中のものとはほぼ異なるものであったが、がん組織内に多く認められるいくつかの TCR クロノタイプは治療中に血中にも存在することがわかった。以上から、切除不能進行大腸がんに対する免疫化学療法有効性のバイオマーカーとして末梢血中の TCR の多様性が有用である可能性が示唆された。

また、FXV study を施行した症例の内、治療前のがん凍結組織が保存されていた 40 例について、全エクソン解析と RNA シークエンスを行った。その結果、がん組織で過剰発現しているタンパクの内、正常組織にはない遺伝子変異を持っておるものを多数同定した。すなわち、真のがん抗原として近年注目されているネオアンチゲンの症例ごとの分布を解析した。その結果、KRAS, BRAF, P53 など、極めて有名な既知の遺伝子変異を除くと、個々の患者におけるネオアンチゲンは全て異なっていた。すなわち、ネオアンチゲン由来のペプチド療法は完全な個別化医療として行うことが必要であることが分かった。

FXV study を施行した症例の内、治療前の血清とがん凍結組織が揃っている 24 例を対象に、血清と腫瘍組織の蛋白並びにマイクロ RNA の網羅的解析を行い、予後良好例と不良例で蛋白やマイクロ RNA の値を比較した。血清蛋白の解析からは、予後良好群と予後不良群の間に有意差が認められた蛋白が約 120 種類同定できた。そのなかには、X などの免疫機能に関与すると思われるものが多く含まれ、免疫療法のバイオマーカー候補を多数同定することが出来た。また、腫瘍組織の網羅的蛋白解析から、予後良好群と予後不良群の間に有意差が認められた蛋白が約 100 種類同定できた。そのなかには、Y や Z などの免疫機能に関与すると思われるものが多く含まれ、免疫療法のバイオマーカー候補を多数同定することが出来た。また、血清マイクロ RNA の新たな網羅的解析の結果から、新たに 11 種類の免疫療法の有効性を予測するマイクロ RNA 候補が同定された。

その成果に基づき、2 種類の新規複合免疫ペプチド療法のプロトコールを構築し、第Ⅰ相臨床試験を開始して、新たな臨床検体の収集を行った。