

平 28 年 度 委 託 研 究 開 発 成 果 報 告 書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 革新的がん医療実用化研究事業  
(英語) Practical Research for Innovative Cancer Control
- 研究開発課題名： (日本語) CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした  
前期第 II 相臨床試験  
(英語) Early phase II clinical trial of CHP-NY-ESO-1 polypeptide cancer  
vaccine in resected esophageal cancer patients
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人三重大学大学院 医学系研究科 遺伝子・免疫細胞治療学  
教授 影山 慎一
- 所属 役職 氏名： (英語) Mie University Graduate School of Medicine, Immuno-Gene Therapy,  
Professor, Shinichi Kageyama
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした  
前期第 II 相臨床試験  
及び、新規バイオマーカー探索と統計学的手法検討の探索的付随研究
- 開発課題名： (英語) Early phase II clinical trial of CHP-NY-ESO-1 polypeptide cancer  
vaccine in resected esophageal cancer patients, and  
Exploratory studies of novel biomarker and statistical analysis
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人三重大学大学院 医学系研究科 消化管・小児外科学  
准教授 毛利 靖彦
- 所属 役職 氏名： (英語) Mie University Graduate School of Medicine,  
Department of Gastrointestinal and Pediatric Surgery  
Associate Professor, Yasuhiko Mohri
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人三重大学大学院 医学系研究科  
客員教授 白石 泰三

所属 役職 氏名： (英 語) Mie University Graduate School of Medicine  
Visiting Professor, Taizou Shiraishi

研究開発分担者 (日本語) 愛知県がんセンター中央病院 消化器外科  
消化器外科医長 安部 哲也

所属 役職 氏名： (英 語) Aich Cancer Center Hospital,  
Department of Gastroenterological Surgery  
Chief Surgeon, Tetsuya Abe

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人北海道大学医学部医学研究科 消化器外科学分野Ⅱ  
教授 平野 聡

所属 役職 氏名： (英 語) Hokkaido University Graduate School of Medicine,  
Department of Gastroenterological Surgery II  
Professor, Satoshi Hirano

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人国立がん研究センター東病院 消化管内科  
医長 小島 隆嗣

所属 役職 氏名： (英 語) National Cancer Center Hospital East,  
Department of Gastrointestinal Oncology  
Chief Physician, Takashi Kojima

研究開発分担者 (日本語) 学校法人昭和大学 医学部 消化器・一般外科  
教授 村上 雅彦

所属 役職 氏名： (英 語) Showa University School of Medicine,  
Department of Gastroenterological Surgery  
Professor, Masahiko Murakami

研究開発分担者 (日本語) 学校法人東邦大学 医学部 外科学講座 一般・消化器外科学分野  
教授 島田 英昭

所属 役職 氏名： (英 語) Toho University School of Medicine, Department of Surgery,  
Gastroenterological Surgery  
Professor, Hideaki Shimada

研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人名古屋大学大学院医学系研究科 消化器外科学  
教授 小寺 泰弘

所属 役職 氏名： (英 語) Nagoya University Graduate School of Medicine,  
Department of Gastroenterological Surgery  
Professor, Yasuhiro Kodera

- 研究開発分担者 (日本語) 京都府公立大学法人 京都府立医科大学大学院 医学研究科 消化器内科  
講師 石川 剛
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Kyoto Prefectural University Graduate School of Medicine,  
Department of Gastroenterology  
Assistant Professor, Takeshi Ishikawa
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学大学院 医学系研究科 臨床腫瘍免疫学  
特任教授 (常勤) 和田 尚
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Osaka University Graduate School of Medicine,  
Department of Clinical Research in Tumor Immunology  
Professor, Hisashi Wada
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人大阪大学 医学部附属病院 未来医療開発部  
准教授 山田 知美
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Osaka University Hospital, Medical Center for Translational  
and Clinical Research  
Associate Professor, Tomomi Yamada
- 研究開発分担者 (日本語) 公益財団法人田附興風会医学研究所 北野病院 消化器センター外科  
副部長 上田 修吾
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Kitano Hospital, Tazuke Kofukai Medical Research Institute,  
Gastroenterological Surgery  
Vice Director, Shugo Ueda
- 研究開発分担者 (日本語) 公立大学法人和歌山県立医科大学 医学部 外科学第2講座  
教授 山上 裕機
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Wakayama Prefectural University School of Medicine,  
Department of Surgery II  
Professor, Hiroki Yamaue
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科  
地域包括ケア教育センター  
教授 永田 康浩
- 所属 役職 氏名 : (英 語) Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences,  
Comprehensive Community Care Education  
Professor, Yasuhiro Nagata
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人長崎大学大学院 医歯薬学総合研究科 移植・消化器外科  
講師 金高 賢悟

所属 役職 氏名： (英 語) Nagasaki University Graduate School of Biomedical Sciences,  
Department of Surgery  
Assistant Professor, Kengo Kanetaka

研究開発分担者 (日本語) 独立行政法人国立病院機構長崎医療センター 外科  
医長 谷口 堅

所属 役職 氏名： (英 語) National Hospital Organization, Nagasaki Medical Center,  
Department of Surgery  
Chief Surgeon, Ken Taniguchi

研究開発分担者 (日本語) 国立研究開発法人産業技術総合研究所  
創薬分子プロファイリング研究センター  
チーム長 五島 直樹

所属 役職 氏名： (英 語) National Institute of Advanced Industrial Science and Technology,  
The Molecular Profiling Research Center for Drug Discovery  
Team Leader, Naoki Goshima

研究開発分担者 (日本語) 学校法人東京医科大学 医学総合研究所 病理・画像部門  
准教授 佐藤 永一

所属 役職 氏名： (英 語) Tokyo Medical University, Institute of Medical Science,  
Department of Pathology and Imaging  
Associate Professor, Eiichi Sato

## II. 成果の概要 (総括研究報告)

### 和文

研究開発担当者は分担者とともに、多施設共同の医師主導治験として「CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした前期第 II 相臨床試験」を実施した。本臨床試験は、術前化学療法と根治手術を受けた食道癌症例に対し CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンを単剤投与し、その安全性、無再発生存期間、全生存期間延長効果を探索する前期第 II 相試験で、腫瘍組織に NY-ESO-1 抗原を発現し、術前化学療法と根治手術を受けた食道癌患者に CHP/NY-ESO-1 ポリペプチド複合体 (200  $\mu$ g/回) を 2 週間隔で 6 回皮下投与し、その後 4 週間隔で 9 回投与する。CHP/NY-ESO-1 ポリペプチド複合体実薬投与群 27 症例、非投与対照群 27 症例共に NY-ESO-1 抗原発現陽性症例を設定し両群を動的割付した。本治験は平成 24 年に臨床試験を開始し、登録期間 3 年とする。平成 27 年度に登録を終え追跡期間 2 年で本課題は平成 29 年に完遂するものである。

付随研究として、新規バイオマーカー探索と統計学的手法検討の探索的付随研究を実施した。液性免疫解析にヒトがん抗原蛋白から成るプロテインアレイを用い、被験者血清中の各種抗体の産生を網羅的に検討するセロミクス解析等を行った。また、新規 T 細胞解析法を開発し、被験者末梢血細胞の解析を行った。さらに、腫瘍組織片の DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析を行う。これらの解析

結果と各患者の臨床経過から患者層別化のシグネチャー探索を行い、後期第 II 相試験の為の情報を得る。がんワクチンの臨床試験に適した新たな統計的解析法を検討するものである。

(1) CHP/NY-ESO-1 ポリペプチドがんワクチンの術後食道癌症例を対象とした前期第 II 相臨床試験  
治験実施状況平成 27 年 6 月までに 288 例を一次登録した。また平成 27 年 10 月までに 54 例（投与群 27 例、非投与群 27 例）を二次登録し、治験登録を完了した。二次登録後は 1 年間に渡る治験薬投与の実施を行った。投与群 27 例のうち治験中止例 7 例、継続例 20 例であり、非投与群 27 例では中止例 9 例、継続例 18 例であった。安全性については、投与群 27 例中 4 例に重篤有害事象の報告があったが、治験薬との因果関係は否定され、安全性には問題なく治験が継続できた。治験との関連のある有害事象は、治験薬の皮下投与部の一過性の発赤（グレード 1、2）が主なものであった。治験薬投与終了後は 1 年間の再発イベント観察となるが、これまで 24 例の再発を認めた。なお、最終観察期間終了後の平成 29 年 10 月に 2 群キーオープンの実施とする。NY-ESO-1 抗原特異的免疫反応解析は、検体は解析機関（三重大学）に集約されており、検体の抗体測定が実施された。

#### (2) 新規バイオマーカー探索と統計学的手法検討の探索的付随研究

ヒトがん抗原蛋白プロテインアレイを用いた血清中の各種抗体の産生を網羅的検討（セロミクス解析）については、血清検体を解析機関に集約され、測定を実施した。

新規マーカーを用いた T 細胞機能測定法の技術開発が行われた。試験的な測定を実施した。

腫瘍組織片の DNA マイクロアレイを用いた網羅的遺伝子発現解析は、すべての検体の遺伝子発現解析を実施した。

がんワクチン開発に適した統計学的解析の予備検討を行った。

## 英文

We have conducted “Early phase II clinical trial of CHP-NY-ESO-1 polypeptide cancer vaccine in resected esophageal cancer patients” as a multi-institutional investigator-initiated clinical trial. In this study, patients were enrolled if they were positive for NY-ESO-1 in tumor tissues and underwent neo-adjuvant chemotherapy followed by tumor resection. The patients were treated with CHP-NY-ESO-1 polypeptide vaccine, and were then evaluated for safety and recurrence-free and overall survivals in this phase II clinical trial. The vaccines were first given 200 $\mu$ g per dose for 6 doses with 2-week interval, and then more 9 doses with 4-week interval. 27 patients were randomly allocated to the vaccine group, and 27 were to the control group of non-treatment. The enrollment started from 2012 through 2015, and this study will be completed in 2017.

As exploratory studies, we investigated a novel biomarker and new method of statistical analysis. Using protein array of human tumor antigen-protein, we investigated seromics analysis on various antibodies in the patients’ serum. Also, we developed a novel T cell analysis, and tested in the patients’ peripheral lymphocytes. We studied gene-analysis of DNA microarray in the tumor samples. Thus, we are able to collect gene-signature data for sub-group analysis based on the clinical outcomes, and these findings will be important for planning late-phase clinical trials. We also developed suitable statistical methods in analyzing cancer vaccine trials.

### (1) Early phase II clinical trial of CHP-NY-ESO-1 polypeptide cancer vaccine in resected esophageal cancer patients

In total, 288 patients were enrolled to the first registration, and in October 2015, 54 patients went through the second registration, in which 27 were allocated to the vaccine group and 27 were to the control group. The patients in the vaccine group treated for 1 year. 7 patients were removed from the study, and 20 patients continued vaccination. In the control group, 9 patients were removed and the remaining 18 continued. In the safety of this trial, 4 cases developed serious adverse events, which were considered to be unrelated to the vaccine. The vaccine-related adverse events were transient skin redness at the vaccine injection sites, which were all scored as graded 1 or 2. Currently, 24 cases experienced disease-recurrence, although the observation will be continue for one year after vaccination periods. The final results will be open in October 2017. We have collected and analyzed the serum samples in Mie University.

### (2) Exploratory studies of a novel biomarker and new method of statistical analysis

For investigation of the seromics analysis, we have collected patients’ serum, and assayed them for the various antibodies. We have developed a novel T cell analysis, and preliminarily tested the patients’ lymphocytes. We completed the gene-analysis for DNA microarray in the tumor samples. We also started preliminary tests of statistical methods for cancer vaccine trials.

### III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 0 件、国際誌 14 件）

1. Kyogoku N, Ikeda H, Tsuchikawa T, Abiko T, Fujiwara A, Maki T, Yamamura Y, Ichinokawa M, Tanaka K, Imai N, Miyahara Y, Kageyama S, Shiku H, Hirano S. Time-dependent transition of the immunoglobulin G subclass and immunoglobulin E response in cancer patients vaccinated with cholesteryl pullulan-melanoma antigen gene-A4 nanogel. *Oncol Lett.* 2016, 12(6), 4493-504.
2. Miyauchi K, Tsuchikawa T, Wada M, Abiko T, Kyogoku N, Shichinohe T, Miyahara Y, Kageyama S, Ikeda H, Shiku H, Hirano S. Clinical relevance of antigen spreading pattern induced by CHP-MAGE-A4 cancer vaccination. *Immunotherapy.* 2016, 8(5):527-40.
3. Hoshino I, Nagata M, Takiguchi N, Nabeya Y, Ikeda A, Yokoi S, Kuwajima A, Tagawa M, Matsushita K, Yajima S, Shimada H. A panel of autoantibodies against multiple tumor-associated antigens for detecting gastric cancer. *Cancer Sci.* 2017, 108(3), 308-15
4. Nanami T, Shimada H, Yajima S, Oshima Y, Matsushita K, Nomura F, Nagata M, Tagawa M, Otsuka S, Kuwajima A, Kaneko H. Clinical significance of serum autoantibodies against Ras-like GTPases, RalA, in patients with esophageal squamous cell carcinoma. *Esophagus.* 2016, 13(2), 167-72.
5. Saito T, Nishikawa H, Wada H, Nagano Y, Sugiyama D, Atarashi K, Maeda Y, Hamaguchi M, Ohkura N, Sato E, Nagase H, Nishimura J, Yamamoto H, Takiguchi S, Tanoue T, Suda W, Morita H, Hattori M, Honda K, Mori M, Doki Y and Sakaguchi S. Two FOXP3+CD4+ T-cell subpopulations distinctly control the prognosis of colorectal cancers. *Nat Med.* 2016, 22(6), 679-84.
6. Nagase H, Takeoka T, Urakawa S, Morimoto-Okazawa A, Kawashima A, Iwahori K, Takiguchi S, Nishikawa H, Sato E, Sakaguchi S, Mori M, Doki Y, Wada H. ICOS+ Foxp3+ TILs in gastric cancer are prognostic markers and effector regulatory T cells associated with *Helicobacter pylori*. *Int J Cancer.* 2017, 140(3), 686-95.
7. Kadono K, Uchida Y, Hirao H, Miyauchi T, Watanabe T, Iida T, Ueda S, Kanazawa A, Mori A, Okajima H, Terajima H, Uemoto S. Thrombomodulin Attenuates Inflammatory Damage Due to Liver Ischemia and Reperfusion Injury in Mice in Toll-Like Receptor 4-Dependent Manner. *Am J Transplant.* 2017, 17(1), 69-80.
8. Maekawa K, Nagayoshi S, Tokunaga T, Takatsuki M, Kitajima T, Taniguchi K, Fujioka H. Clinical and Oncological Outcomes of Laparoscopic Versus Open Surgery for Advanced Rectal Cancer. Nonaka T, Fukuda A. *Anticancer Res.* 2016, 36(10), 5419-24.
9. Matsui A, Fujimoto J, Ishikawa K, Ito E, Goshima N, Watanabe S, Semba K. Hepatocyte nuclear factor 1 beta induces transformation and epithelial-to-mesenchymal transition. *FEBS Lett.* 2016, 590(8), 1211-21.
10. Kitazawa K, Hikichi T, Nakamura T, Mitsunaga K, Tanaka A, Nakamura M, Yamakawa T, Furukawa S, Takasaka M, Goshima N, Watanabe A, Okita K, Kawasaki S, Ueno M,

- Kinoshita S, Masui S. OVOL2 Maintains the Transcriptional Program of Human Corneal Epithelium by Suppressing Epithelial-to-Mesenchymal Transition. *Cell Rep.* 2016, 15(6), 1359-68
11. Mannen T, Yamashita S, Tomita K, Goshima N, Hirose T. The Sam68 nuclear body is composed of two RNase-sensitive substructures joined by the adaptor HNRNPL. *J Cell Biol.* 2016, 214(1), 45-59.
  12. Sugiyama Y, Yamashita S, Uezato Y, Senga Y, Katayama S, Goshima N, Shigeri Y, Sueyoshi N, Kameshita I, Phosphorylated TandemMBP: A unique protein substrate for protein phosphatase assay. *Anal Biochem.* 2016, 513, 47-53.
  13. Hoshi H, Hiyama G, Ishikawa K, Inageda K, Fujimoto J, Wakamatsu A, Togashi T, Kawamura Y, Takahashi N, Higa A, Goshima N, Semba K, Watanabe S, Takagi M. Construction of a novel cell-based assay for the evaluation of anti-EGFR drug efficacy against EGFR mutation. *Oncol Rep.* 2017, 37(1), 66-76.
  14. Matsumoto M, Matsuzaki F, Oshikawa K, Goshima N, Mori M, Kawamura Y, Ogawa K, Fukuda E, Nakatsumi H, Natsume T, Fukui K, Horimoto K, Nagashima T, Funayama R, Nakayama K, Nakayama KI. A large-scale targeted proteomics assay resource based on an in vitro human proteome. *Nat Methods.* 2017, 14(3):251-58.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. 食道癌に対する免疫療法：がんワクチンと免疫細胞療法，口頭，影山慎一，ザ・プリンセスパークタワー東京，2016/7/6，国内。
2. 術前 LANC score が食道癌手術成績に与える影響，ポスター，毛利靖彦，第 70 回日本食道学会学術集会，ザ・プリンセスパークタワー東京，2016/7/4，国内。
3. 食道癌手術における術前好中球比率が外科侵襲、術後成績に与える影響，口頭，毛利靖彦，第 53 回日本外科代謝栄養学会，東京大学伊藤国際学術研究センター，2016/7/7，国内。
4. 食道癌手術症例における術前 CRP/アルブミン比が予後に与える影響，ポスター，毛利靖彦，第 102 回日本消化器病学会総会，京王プラザホテル，2016/4/21，国内。
5. 胃癌における血清 NY-ESO-1 抗体と組織アレイを用いた臨床病理学的検討，口頭，谷島聡，島田英昭，伊藤正朗，白鳥史明，竹山照明，鈴木 隆，名波竜規，大嶋陽幸，鷺澤尚宏，根本哲生，金子弘真，第 116 回日本外科学会定期学術集会，大阪国際会議場，2016/04/15，国内。
6. 食道癌・胃癌における新規自己抗体である血清 RalA 抗体の解析，ポスター，名波竜規，島田英昭，白鳥史明，松本 悠，三浦康之，竹山照明，鈴木 隆，大嶋陽幸，谷島 聡，鷺澤尚宏，根本哲生，金子弘真，第 116 回日本外科学会定期学術集会，大阪国際会議場，2016/04/15，国内。
7. 食道癌臨床研究の実践。口頭，島田英昭，第 17 回臨床研究セミナー（日本臨床外科学会・日本外科学会，グランドプリンスホテル新高輪，2016/11/26，国内。
8. Serum p53-antibody positive esophageal Squamous cell carcinoma had a low sensitivity to chemotherapy, Yajima S, Shimada H, Suzuki Takashi, Nemoto T, Oshima Y, Nanami T, Shiratori F, Kaneko H. ポスター，The 15th World Congress of the International Society for Diseases of the Esophagus(ISDE 2016), Singapore, 2016/09/19, 国際。



9. 当院におけるサルベージ手術の治療成績, ポスター, 上田修吾, 第 70 回日本食道学会学術集会, ザ・プリンセスパークタワー東京, 2016/7/4, 国内.
10. 食道類基底細胞癌:自験例および本邦報告例の検討, ポスター, 谷口堅、永吉茂樹、前川恭一郎、福田明子、野中 隆、徳永隆幸、北島知夫、前田茂人、伊東正博、藤岡ひかる, 第 70 回日本食道学会学術集会, ザ・プリンセスパークタワー東京, 2016/7/4, 国内.
11. 食道癌術後再建胃管 **super drainage** の有用性-特に短胃静脈/前頸静脈吻合-, ポスター, 谷口堅、永吉茂樹、前川恭一郎、福田明子、野中 隆、徳永隆幸、高槻光寿、北島知夫、前田茂人、藤岡ひかる, 第 24 回日本消化器関連学会週間/第 14 回日本消化器外科学会大会, 神戸コンベンションセンター, 2016/11/3, 国内.
12. 完全腹臥位胸腔鏡下食道平滑筋腫核出術: 術中内視鏡を用いて, 口演, 谷口堅・渡海大隆・糸瀬磨・松村尚美・森山正章・森田 道・持永浩史・北里 周・徳永隆幸・竹下浩明・黒木保・前田茂人・田川 努・藤岡ひかる, 第 28 回日本内視鏡外科学会総会, 大阪国際会議場, 2016/12/10, 国内.
13. リンカー設計およびタンパク質翻訳過程の至適化による試験管内進化技術, 口演, 久保泰、Mohammed Naimuddin、多田耕平、平家勇司、五島直樹, 第 39 回日本分子生物学会年会, パシフィコ横浜, 2016/12/1, 国内.

### (3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み

平成 28 年 2 月 23 日 (東京、東京大学伊藤国際学術研究センター) に、三重大学が厚生労働省から委託を受けた革新的医薬品・医療機器・再生医療等製品実用化促進事業 (がんワクチン等) の公開シンポジウム (がん免疫療法 2017 年—複合化と個別化の科学基盤とレギュレーション—) において、がん免疫療法の後期臨床試験ガイドランスとがんワクチン・アジュバントの非臨床試験ガイドランスについて報告した。本研究開発と関連の深い内容についての公開討論を行った。

### (4) 特許出願

該当なし