(19)日本国特許庁(JP)　(12)特　許　公　報(B2)　(11)特許番号

特許第4905624号
(P4905624)

(45)発行日　平成24年3月28日(2012.3.28)　(24)登録日　平成24年1月20日(2012.1.20)

(51)Int.Cl.		F I		
A61K 38/00	(2006.01)	A61K	37/02	
A61K 31/565	(2006.01)	A61K	31/565	
A61K 39/00	(2006.01)	A61K	39/00	H
A61P 13/08	(2006.01)	A61P	13/08	
A61P 35/00	(2006.01)	A61P	35/00	

請求項の数 5　外国語出願　(全 39 頁)　最終頁に続く

(21)出願番号　特願2004-318161 (P2004-318161)
(22)出願日　平成16年11月1日 (2004.11.1)
(65)公開番号　特開2007-51066 (P2007-51066A)
(43)公開日　平成19年3月1日 (2007.3.1)
審査請求日　平成19年11月1日 (2007.11.1)
(31)優先権主張番号　特願2005-510143 (P2005-510143)
(32)優先日　平成15年10月31日 (2003.10.31)
(33)優先権主張国　日本国(JP)

特許法第３０条第１項適用　特許法第３０条第１項適用、平成１５年９月２５日名古屋国際会議場において開催された第６２回日本癌学会総会で発表

(73)特許権者　599045903
学校法人　久留米大学
福岡県久留米市旭町６７番地
(74)代理人　100062144
弁理士　青山　葆
(74)代理人　100101454
弁理士　山田　卓二
(74)代理人　100106518
弁理士　松谷　道子
(74)代理人　100068526
弁理士　田村　恭生
(74)代理人　100087114
弁理士　齋藤　みの里

最終頁に続く

(54)【発明の名称】ペプチドワクチン投与およびエストラムスチン処置の併用療法

(57)【特許請求の範囲】
【請求項１】
前立腺癌患者に対し、該患者のＨＬＡクラスＩ抗原に結合し、患者特異的なＣＴＬ誘導能を有する癌抗原ペプチドと共に投与されるための、１４０－５６０ｍｇ／日投与されるエストラムスチンまたはその塩を含む前立腺癌を処置するための医薬組成物。
【請求項２】
前立腺癌がホルモン不応性前立腺癌である、請求項１記載の医薬組成物。
【請求項３】
患者が、エストラムスチン単独治療に応答性でない患者である、請求項１または２に記載の医薬組成物。
【請求項４】
患者が癌抗原ペプチド単独治療に応答性でない患者である、請求項１～３いずれかに記載の医薬組成物。
【請求項５】
エストラムスチンまたはその塩が、エストラムスチンリン酸塩である請求項１～４いずれかに記載の医薬組成物。
【発明の詳細な説明】
【発明の詳細な説明】
【０００１】
［技術分野］

本発明は、癌の免疫療法、具体的にはホルモン不応性前立腺癌の処置に関する。

【０００２】

［背景技術］

転移性ホルモン不応性前立腺癌（ＨＲＰＣ）患者の最適な処置は依然として癌研究の代表的目標であり続けている。転移性ＨＲＰＣ患者の生存期間中央値は約１２ヶ月である［１３］。ミトキサントロン（mitoxantrone）による化学療法には一過性の改善が見られるが［１、２］、生存期間延長が証明された処置はまだない。最近、エストラムスチンまたはタキサンに基づく治療法の第ＩＩ相臨床試験において、患者の４５％～６７％で血清前立腺特異的抗原（ＰＳＡ）レベルが≧５０％低下したことが報告された［４８］。しかしながら、これらの併用は、顕著な悪心、下痢、白血球減少、および累積性体液貯留を伴い、血栓性イベントの危険が増大するので、パフォーマンス・ステータスの悪い患者には使用できない。それに加えて、これら治療法ではいずれも生存期間延長が見られず、この研究での患者数は限られている。

【０００３】

ヒト白血球関連抗原（ＨＬＡ）クラスＩ拘束性細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）が認識する多数の腫瘍抗原が過去十年間に確認され［９、１０］、腫瘍ワクチンを用いるＨＲＰＣの新処置法が研究されてきた。樹状細胞に基づく免疫療法の第Ｉ相／第ＩＩ相臨床試験が行われ、組換え前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）およびアジュバントを含むワクチンも前立腺癌患者で試験された［１１、１２］。ＨＲＰＣ患者に施すわれわれの免疫療法の手法は、既報のように［１３、１４］、ＣＴＬを誘導する能力を持つワクチン候補３０種に反応する癌患者の循環血中のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体のワクチン投与前測定に続いて、反応性ペプチドのみを投与するもの（患者指向性ペプチドワクチン投与）である。われわれは最近、ＨＲＰＣについて第Ｉ相臨床試験を完了し、これらのペプチドの安全な投与を評価した［１５］。この免疫療法の有害事象は通常の治療法のものより軽症であったが、この試験の臨床的応答は限定的であった。細胞毒性物質による免疫系の抑制が最低の場合にペプチドワクチン投与と細胞毒性物質との併用によって相加的抗腫瘍効果が達成できるであろうことが示唆される。

【０００４】

エストラムスチンリン酸塩は、エストラジオールとナイトロジェンマスタードとの安定な結合体であって、抗有糸分裂性を示し、微小管形成の崩壊を起す［１６］。エストラムスチンリン酸塩は、過去２５年間にＨＲＰＣの一次的処置のみならず二次的処置として、第ＩＩ相および第ＩＩＩ相臨床試験が何回も行われている。他の細胞毒性薬と比較してエストラムスチンリン酸塩の利点は、投与が容易な点（経口投与）および有効用量で比較的に耐容性がよい点にある。

【０００５】

免疫療法と細胞毒性薬との併用は新しい概念ではないが［２７］、多くの細胞毒性薬の骨髄抑制的な性質により起こり得るマイナスの相互作用が主な注目を集めてきた。細胞毒性薬は、活性化免疫系の特徴として分裂中の細胞を優先的に殺し、それ故に免疫応答を阻害する場合がある。しかしながら、エストラムスチンリン酸塩の毒性としての骨髄抑制は、ＨＲＰＣを処置した患者では稀にしか報告されていない［１６］。エストラムスチンリン酸塩とビンブラスチンとの併用をビンブラスチン単独と比較する第ＩＩＩ相臨床試験では、併用法は単独法に比べて好中球減少率が低かった（グレード２、３、４：７％、１％および１％に対して２７％、１８％および９％）［３］。

【０００６】

［発明の開示］

本発明の目的は、患者指向性ペプチドワクチン投与および経口投与エストラムスチンリン酸塩の併用に対するＨＲＰＣ患者の臨床的および免疫学的応答を、順次測定した血清ＰＳＡ、骨代謝マーカー並びに臨床的骨スキャン記録、ＩＮＦ－γ放出検定によるペプチド特異的ＣＴＬ前駆体、および酵素結合免疫吸着検査法によるペプチド反応性ＩｇＧを解析して評価することにある。

【０００７】
即ち、本発明は以下の各項に関する：
（１）前立腺癌を処置するための方法であって、治療上有効量の癌抗原ペプチド関連物質および低用量のエストラムスチンまたはその塩をそれを必要とする患者に投与することを含む方法；
（２）低用量のエストラムスチンまたはその塩の用量が１４０～５６０ｍｇ／日である、（１）に記載の方法；
（３）癌抗原ペプチド関連物質が患者指向性である、（１）または（２）に記載の方法；
（４）癌抗原ペプチド関連物質が、癌抗原タンパク質、その癌抗原ペプチド、その遺伝子およびそれらの誘導体より成る群から選択される、（３）に記載の方法；
（５）癌がホルモン不応性前立腺癌である、（１）から（４）のいずれかに記載の方法；
（６）前立腺癌を処置するための医薬組成物であって、低用量のエストラムスチンまたはその塩を含む、癌抗原ペプチド関連物質と一緒に投与される医薬組成物；
（７）低用量のエストラムスチンまたはその塩の用量が１４０～５６０ｍｇ／日である、
（６）の医薬組成物；
（８）癌抗原ペプチド関連物質が患者指向性である、（６）または（７）の医薬組成物；
（９）癌抗原ペプチド関連物質が、癌抗原タンパク質、その癌抗原ペプチド、その遺伝子およびそれらの誘導体より成る群から選択される、（８）の医薬組成物；
（１０）癌がホルモン不応性前立腺癌である、（６）から（９）のいずれかに記載の医薬組成物；および
（１１）前立腺癌を処置するための医薬を製造するためのエストラムスチンまたはその塩の使用であって、該エストラムスチンまたはその塩が低用量であり、かつ該医薬が癌抗原ペプチド関連物質と一緒に投与される使用。
【０００８】
［発明を実施するための最良の形態］
本発明によって、我々は、事前のペプチドワクチン投与に応答しなかったヒト白血球抗原（ＨＬＡ）－Ａ２４またはＡ２陽性転移性ホルモン不応性前立腺癌（ＨＲＰＣ）患者に、ペプチドワクチン投与およびエストラムスチンリン酸塩処置の併用療法を施し、その結果、この併用療法がペプチド特異的ＣＴＬ前駆体またはペプチド特異的ＩｇＧを成功裏に増強すること、および患者の血清ＰＳＡレベルを減少させることを見出した。
【０００９】
第１の態様において本発明は、前立腺癌を処置するための方法であって、治療上有効量の癌抗原ペプチド関連物質および低用量のエストラムスチンまたはその塩をそれを必要とする患者に投与することを含む方法を提供する。
【００１０】
本発明によって処置される前立腺癌には、ホルモン応答性前立腺癌(hormone-responsive prostate cancer）、ホルモン不応性前立腺癌（hormone-refractory prostate cancer）およびホルモン無感応性前立腺癌（hormone-insensitive prostate cancer）を含む。本発明は、好ましくはホルモン不応性前立腺癌、特に転移性ホルモン不応性前立腺癌を処置または予防する。
【００１１】
エストラムスチンは抗新生物薬と呼ばれる医薬群に属し、前立腺癌の症例のいくつかの処置に世界的に使用されている。エストラムスチンはエストラジオールとナイトロジェンマスタードとの組み合わせである。本発明では、エストラムスチンを塩、好ましくはリン酸塩、の形で患者に経口投与できる。
【００１２】

エストラムスチンに関して用いる「低用量」なる用語は、通常の用量よりも低いエストラムスチン用量を意味し、具体的には、１４０～５６０ｍｇ／日、好ましくは２１０～４９０ｍｇ／日、更に好ましくは２１０～４２０ｍｇ／日、なお好ましくは２８０ｍｇ／日を示す。低用量には、特に、１００～１５０ｍｇ／日、１００～２００ｍｇ／日、１００～２５０ｍｇ／日、１２０～１７０ｍｇ／日、１２０～２２０ｍｇ／日、１２０～２７０ｍｇ／日、１４０～１９０ｍｇ／日、１４０～２４０ｍｇ／日、１４０～２９０ｍｇ／日、１６０～２１０ｍｇ／日、１６０～２６０ｍｇ／日、１８０～２３０ｍｇ／日および１８０～２８０ｍｇ／日が含まれる。

【００１３】

本明細書で用いる「癌抗原ペプチド関連物質」なる用語は、腫瘍抗原タンパク質並びにその遺伝子、腫瘍抗原タンパク質由来の腫瘍抗原ペプチド並びにその遺伝子、およびそれらの誘導体を意味する。腫瘍抗原ペプチドは、腫瘍に特異的なタンパク質である腫瘍抗原タンパク質の細胞内のプロテアソームによる分解によって作製され、細胞内で合成される。このようにして作製された腫瘍抗原ペプチドは、小胞体にあるＭＨＣクラスＩ抗原（ＨＬＡ抗原）に結合して複合体を形成し、この複合体が細胞表面に輸送されることで抗原として提示される。

【００１４】

本発明で使用する腫瘍抗原タンパク質は、次のものを含む：すなわちヒトメラノーマ細胞由来のＭＡＧＥと命名されたタンパク質（Science, 254: 1643, 1991）；メラノソームのタンパク質、たとえばメラニン形成細胞組織特異的タンパク質、ｇｐ１００（J. Exp. Med., 179: 1005, 1994）、ＭＡＲＴ－１（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 91: 3515, 1994）、およびチロシナーゼ（J. Exp. Med., 178: 489, 1993）；ＭＥＧＥ関連タンパク質（J. Exp. Med., 179: 921, 1994）；腫瘍特異的アミノ酸突然変異を有するβ－カテニン（catenin）（J. Exp. Med., 183: 1185, 1996）；およびＣＤＫ４（Science, 269: 1281, 1995）；ＨＥＲ２-ｎｅｕ（J. Exp. Med., 181: 2109, 1995）、ｐ５３（変異種）（Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 93: 14704, 1996）；腫瘍マーカー、たとえばＣＥＡ（J. Natl. Cancer Inst., 87: 982, 1995）、ＰＳＡ（J. Natl. Cancer Inst., 89: 293, 1997）；およびウイルスタンパク質、たとえばＨＰＶ（J. Immunol., 154: 5934, 1995）およびＥＢＶ（Int. Immunol., 7: 653, 1995）。これらの物質の詳細な説明は刊行された総説に記載がある（例えば、Immunol. Today, 18: 267, 1997；J. Exp. Med., 183: 725, 1996；および Curr. Opin. Immunol., 8: 628, 1996）。

【００１５】

本発明で使用する腫瘍抗原ペプチドの典型的な例は、以下のものを含むが、これらに限定されない： WO97/46676, WO99/29715 および WO99/33977に記載の腫瘍抗原ペプチド；サイクロフィリンＢ（cyclophilin B）由来の腫瘍抗原ペプチド（WO99/67288）；ＳＡＲＴ－１由来の腫瘍抗原ペプチド（WO00/06595）；ＳＡＲＴ－３由来の腫瘍抗原ペプチド（WO00/12701）；ＡＲＴ－１由来の腫瘍抗原ペプチド（WO00/32770）；ＳＡＲＴ－２由来の腫瘍抗原ペプチド（J. Immunol, 164: 2565, 2000）；ｌｃｋ由来の腫瘍抗原ペプチド（Eur. J. Immunol., 31: 323, 2001）；ＡＲＴ－４由来の腫瘍抗原ペプチド（Cancer Res., 60: 3550, 2000）；およびｐｐＭＡＰｋｋ、ＷＨＳＣ２、ＵＢＥ２Ｖ、ＨＮＲＰＬ、ＥＩＦ由来の腫瘍抗原ペプチド（Cancer Res., 61: 2038, 2001）。

【００１６】

本発明で使用する癌抗原タンパク質および癌抗原ペプチドの遺伝子は、たとえばMolecular Cloning 2nd Edt. Cold Spring Harbor Laboratory Press（1989）に記載の方法のような周知の方法に従い、前記文献を参照して調製することができる。

【００１７】

本発明で使用する癌抗原タンパク質、癌抗原ペプチドおよびその遺伝子の誘導体は、その癌抗原タンパク質およびペプチドのアミノ酸配列に基づいて調製される人工のタンパク質およびペプチドおよびその遺伝子を意味する。誘導体の典型的な例には、天然の癌抗原タンパク質およびペプチドのアミノ酸配列に対して少数のアミノ酸残基が置換、欠失およ

び／または付加しているアミノ酸配列を有し、かつその天然の癌抗原タンパク質およびペプチドと同等の免疫応答誘導活性を有する、タンパク質およびペプチドが含まれる。

【００１８】

本発明によれば、患者指向性の癌抗原ペプチド関連物質を投与する。例えば、患者指向性癌抗原ペプチドを選択するために、抗原ペプチドを含むワクチン候補を癌患者に投与し、そのワクチン候補がＣＴＬを誘導する能力を常法［１３、１４］によって測定する。この癌抗原ペプチド関連物質は、通常皮下に投与する。

【００１９】

第２の態様において本発明は、前立腺癌を処置するための医薬組成物であって、低用量のエストラムスチンまたはその塩を含み、かつ癌抗原ペプチド関連物質と一緒に投与される医薬組成物を提供する。別の側面において本発明は、前立腺癌を処置するための医薬組成物であって、低用量のエストラムスチンまたはその塩を含み、かつ癌抗原ペプチド関連物質に特異的なＣＴＬ前駆体を増加させ、および／または癌抗原ペプチド関連物質に特異的な免疫グロブリンＧを増加させる医薬組成物を提供する。「前立腺癌」、「エストラムスチン」、「低用量」、「癌抗原ペプチド関連物質」なる用語の意味は前記した。

【００２０】

［実施例］

本発明を下記実施例によってさらに説明するが、本発明はいかなる点においてもこれら実施例によって限定されるものではない。

【００２１】

実施例で使用する略号は以下の用語を意味する：細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）；末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）；ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）；ホルモン不応性前立腺癌（ＨＲＰＣ）；前立腺特異抗原（ＰＳＡ）；骨代謝マーカー（ピリジノリン架橋Ｉ型コラーゲンカルボキシ末端テロペプチド：ＩＣＴＰ）；酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）；遅延型過敏症（ＤＨＴ）；コンピュータ断層撮影（ＣＴ）；完全応答（ＣＲ）；部分応答（ＰＲ）；病状増悪（ＰＤ）；および高度の応答（Ａｒ）。

【００２２】

（実施例１）

患者および方法

患者

２００１年２月から２００２年９月の間に、ヒト白血球抗原（ＨＬＡ）Ａ２４またはＡ２陽性転移性ＨＲＰＣ患者２０名が第Ｉ相試験に参加し、患者にペプチド特異的細胞傷害性Ｔリンパ球（ＣＴＬ）前駆体指向性ワクチンを投与した［１５］。患者１３名は、第Ｉ相試験で少なくとも３回のペプチドワクチン投与後に病状が増悪した場合に、ペプチドワクチン投与およびエストラムスチンリン酸塩処置の併用療法に参加した。病状の増悪は、判断基準３種の少なくとも１種によって定義した：すなわち少なくとも２週あけて２回連続してＰＳＡレベルがベースラインから２５％以上増大したこと；二次元的に測定可能な軟部組織転移が２５％以上増大したこと；および放射性核種骨スキャン上に新病巣が出現したことである。血清ＰＳＡレベルは正常範囲を０～４．０ｎｇ／ｍＬとしてタンデムーＲ（Hybritech Inc., San Diego, CA）検定を用いて測定した。その他の適格性には、イースタン・コオペラティブ・オンコロジー・グループの基準（Eastern Cooperative Oncology Group）のパフォーマンス・ステータス０または１、年齢７９才またはそれ以下、顆粒球数３０００／mm^3以上、ヘモグロビン１０ｇ／ｄｌ以上、血小板１０万／mm^3以上、ビリルビンが施設所定の正常限界に等しいかまたはそれ以下、およびクレアニチン１．４ｍｇ／ｄＬ以下が含まれた。Ｂ型肝炎およびＣ型肝炎の血清検査の陰性を必須とした。５年以内に重症疾患または活性な二次的悪性腫瘍に罹患した患者は研究参加から除外した。除外基準には、免疫抑制または自己免疫疾患の徴候がある者も含まれた。全患者に施設の指針に従って内容を説明して承認を得た。この研究は、久留米大学医学部倫理委員会の承認を得た。

【００２３】

患者１３名中２名の患者は、意図した治療コースが完了せず（ワクチン投与６回）、免疫学的解析用サンプルがなかったことから免疫学的および臨床的評価からはずした。それ故、患者１１名を免疫学的および臨床的評価の対象にできた。併用療法で処置した患者１１名のベースライン特性を下記表１にまとめた。

【００２４】

研究に登録した時点で、骨転移を有する患者のＰＡＢＳ中央値％は６．０（範囲：１．５～８．４）であった。事前の処置には、ホルモン療法（患者１１名）、骨転移に対する放射線療法（患者２名）およびエストラムスチンリン酸塩による化学療法（患者８名：患者５名はエストラムスチン単独で；患者３名はエストラムスチン＋エトポシド配合剤ので処置）が含まれていた。患者全１１名は、併用療法開始前に３回以上（中央値６回、範囲３回～２３回）ペプチドワクチン投与を受けた。併用療法継続の中央値は１３ヶ月であった（範囲６ヶ月～２１ヶ月）。

【００２５】

患者指向性ペプチドワクチン投与

ＨＲＰＣ患者に対する我々の免疫療法の手法は、既報のように［１３～１５］、ＣＴＬを誘導する能力を有するワクチン候補３０種（ＨＬＡ－Ａ２４陽性患者に対するペプチド１４種およびＨＬＡ－Ａ２陽性患者に対するペプチド１６種）に反応する癌患者の循環血中のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体をワクチン投与前に測定し、続いて、反応性ペプチドのみを投与するものである（ＣＴＬ前駆体指向性ペプチドワクチン）。本研究に使用したペプチドを下記表２に記載する。これらのペプチドは、医薬品の製造管理及び品質管理に関する基準条件下、マルチプルペプチドシステム（Multiple Peptide System, San Diego, CA）によって調製した。これらのペプチドはすべて、癌患者の末梢血単核細胞（ＰＢＭＣ）においてＨＬＡ－Ａ２４またはＨＬＡ－Ａ２拘束性および腫瘍特異的ＣＴＬ活性を誘導する能力を有する［１７～２３］。第１回目のワクチン投与前と６回のワクチン投与毎の投与後７日目とに末梢血３０ｍＬを採取し、フィコール－コンレイ密度勾配遠心法によりＰＢＭＣを分離した。ＰＢＭＣ中のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体は、既報の培養法［２４］を用いて検出した。略述すれば、ＰＢＭＣ（１ｘ１０^{5}細胞／ウェル）を培養培地２００μＬ中で、各ペプチド１０μＭとともにＵ底型９６－ウェルマイクロ培養プレート（Nunc, Roskilde, Denmark）上でインキュベーションした。この培養培地は、４５％ＲＰＭＩ１６４０培地、４５％ＡＩＭ－Ｖ^{TM}培地（Invitrogen Corp., Carlsbad, CA）、１０％ＦＣＳ、１００Ｕ／ｍＬ－インターロイキン２（ＩＬ－２）および０．１ｍＭ－ＭＥＭ非必須アミノ酸溶液（Invitrogen Corp.）を含む。１２日まで３日毎に培地の半分を除去し、対応ペプチド（２０μＭ）を含む新しい培地に交換した。培養１２日目で最後の刺激から２４時間後に、細胞を回収し、３回洗浄し、次に、対応ペプチドまたはネガティブコントロールとしてのＨＩＶペプチド（ＲＹＬＲＱＱＬＬＧＩ）の何れかを事前にロードしたＣ１Ｒ－Ａ２４０２またはＴ２細胞に応答してＩＮＦ－γを産生する能力を、ＨＬＡ－Ａ２４またはＨＬＡ－Ａ２ＰＢＭＣにおいてそれぞれ試験した。標的細胞（Ｃ１Ｒ－Ａ２４０２またはＴ２、１ｘ１０^{4}／ウェル）を各ペプチド（１０μＭ）で２時間パルスし、次にエフェクター細胞（１ｘ１０^{5}／ウェル）を各ウェルに加えて最終容量２００μＬとした。１８時間インキュベーション後、上清（１００μＬ）を回収し、酵素結合免疫吸着検査法（ＥＬＩＳＡ）を用いてＩＮＦ－γの量を測定した（検出限界：１０ｐｇ／ｍＬ）。全実験を、異なる４ウェル中で２回反復して行った。ペプチド３０種（ＨＬＡ－Ａ２４陽性患者に対するペプチド１４種、およびＨＬＡ－Ａ２陽性患者に対するペプチド１６種）に反応するＣＴＬ前駆体について、ワクチン投与前ＰＢＭＣを異なるウェルで各ウェルにつき２回反復してスクリーニングした。各ウェルの結果をｐ値（両測スチューデントｔ検定）に従って４群に分類し、ＩＮＦ－γの量（対応ペプチドに対する応答平均値－ＨＩＶペプチドに対する応答平均値）は以下の通りであった：

高度の応答（Ａｒ）：ｐ≦０．１および５００≦純産生量；

Ａ：中程度の応答（Ａ）：ｐ≦０．０５および５０≦純産生量；

Ｂ：ｐ≦０．０５および２５≦純産生量＜５０；

Ｃ：０．０５＜ｐ≦０．１および５０≦純産生量。
ペプチドは４ウェル全ての評価に基づいて前記の順序で選択した。
【００２６】
併用療法
ペプチドワクチン投与計画は以下の通りであった：皮膚試験では、選択したペプチドを各１０μｇずつ４種まで、２７ゲージ注射針を装着したツベルクリン注射器で別個に皮内注射した。皮膚試験２０分後および２４時間後に、即時型および遅延型過敏症（ＤＨＴ）反応を測定した。直径＞３０ｍｍの紅斑および硬結を陽性の皮膚試験反応と定義し、食塩水を過敏症評価のネガティブコントロールに用いた。即時型過敏症が陰性の場合に、ペプチドを注射した。併用療法の前に、各ペプチド３ｍｇ／ｍＬを各患者の大腿側方皮下に２週間隔で合計６回注射した。併用療法の間、各ペプチド１ｍｇ／ｍＬを４週間隔～６週間隔で注射した。
【００２７】
最初の２症例でははじめ、エストラムスチンリン酸塩を１４０ｍｇカプセル２カプセルを１日２回、合計日用量５６０ｍｇで経口投与したが、これらの患者で重度の免疫抑制が観察された。重度の免疫抑制を回避するために、残りの１１症例ではエストラムスチンリン酸塩を２８０ｍｇ／日に減量した。
【００２８】
免疫学的モニタリング
併用療法中の免疫応答を評価するために、ＰＢＭＣ内のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体およびペプチド特異的抗体の血清濃度をワクチン投与６回毎に測定した。ＰＢＭＣ内のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体は、既報の培養法を使用して検出し［２４］、投与ペプチドに特異的な血清ＩｇＧレベルは、既報のようにＥＬＩＳＡを使用して検出した［１３～１５］。これに加えて、エストラムスチン誘導免疫抑制を慎重に測定するため、新しいモニタリングを行った。すなわち、ＰＢＭＣを２週間毎に回収し、三回反復検定にて、１０μＭフィトヘマグルチニン（ＰＨＡ）、ＨＬＡ－Ａ２４または－Ａ２結合モチーフを有する Epstein-Bar ウイルス（ＥＢＶ）由来ペプチド１０ｎｇ／ｍＬおよびワクチン投与した２種の異なるペプチド１０ｎｇ／ｍＬとともに２日間培養した（10^4細胞／ウェル）。２日間培養後、無細胞上清液中のＩＮＦ－γ量を三回反復検定で測定し、生存細胞数も計数した。各検定での偏りを回避するために、ＰＢＭＣ全てを一度凍結保存し、４種の相異なるＰＢＭＣ（健常人より２種、直近のワクチン投与の２週前に回収した患者ＰＢＭＣより１種および直近のワクチン投与より１種）を実験日の朝に同時に解凍した。ＰＨＡ、ＥＢＶ－ペプチドおよびワクチン投与ペプチドに対する応答（ＩＮＦ－γ産生）は、各々休止Ｔ細胞、記憶Ｔ細胞および活性化Ｔ細胞により仲介されると考えられる。
【００２９】
臨床的モニタリング
患者を臨床的にモニターして併用療法の効果を評価した。具体的には、本研究に参加した患者を疾患死または不耐容まで、または同意が撤回されるまでモニターした。臨床と実験室での評価は各訪問時に行い、患者から有害事象、その重症度および頻度を聴取した。有害事象の重症度は、米国癌研究所（the National Cancer Institute： NCI）の毒性評価基準に従って評点をつけた。血清ＰＳＡおよび骨代謝マーカー（ピリジノリン架橋Ｉ型コラーゲンカルボキシ末端テロペプチド：ＩＣＴＰ）レベルを処置の間４週毎に測定した。ＩＣＴＰの血中濃度は、二抗体ラジオイムノアッセイ（ＲＩＡ）により、テロペプチドＩＣＴＰのＲＩＡキット（フィンランド国、Espoo、Orion Diagnostica社製品；日本国、東京、中外提供）を使用して測定した。血清ＩＣＴＰの正常範囲は１．８～５．０ｎｇ／ｍＬである［２５］。骨スキャンおよび腹部のコンピュータ断層撮影（ＣＴ）スキャンは、この研究進行中３ヶ月ごとに行った。骨スキャンによる転移の所見は、骨スキャンにおける陽性部分の百分率（％ＰＡＢＳ）［２６］を用いる疾患の範囲によって評価した。臨床的応答は、ＰＳＡレベルの変化と、測定可能な疾患を有する患者における画像研究の変化との両方によって決定した。ＰＳＡ応答は、少なくとも４週あけた２回の連続測定での

ＰＳＡレベルのベースラインからの５０％またはそれ以上の低下（ＰＲ）またはＰＳＡレベルの正常化（ＣＲ）と定義した。ＰＳＡ増悪の時点は、はじめて２回連続でＰＳＡレベルがベースラインから２５％以上増大した時点として登録した。測定可能かつ評価可能な疾患の応答および増悪については標準的定義を用いた。二次元的に測定可能な疾患を有する患者については、完全応答（ＣＲ）は、少なくとも４週にわたる全標的病巣の消失と定義した；部分応答（ＰＲ）は、二次元的に測定可能な疾患の≧５０％の低下と定義し、軽度応答は２５％から５０％の間の低下と定義した。骨転移の応答については、ＣＲを骨スキャンにおける全陽性範囲の消失と定義した。％ＰＡＢＳでは、ＰＲは５０％またはそれ以上の低下であると定義し、増悪（ＰＤ）は陽性部位数の増大、既存の病巣の悪化、またはこの２つの同時観察と定義した。

【００３０】

統計学的方法

非増悪生存期間は、併用療法の開始時点から、病状が増悪した患者では増悪時点まで、増悪なしに死亡した患者では死亡時点まで、または生存し、増悪しなかった患者では最後の接触時点までの時間と定義した。原因特異的生存期間は、併用療法開始から疾患による死亡までの時間と定義した。カプラン－マイヤー（Kaplan－Meier）法を用いて非増悪生存期間および原因特異的生存期間を評価した。

【００３１】

結果

併用療法中の免疫学的応答

併用療法中、ペプチド特異的ＣＴＬ前駆体およびペプチド特異的抗体を全患者１１名について６週間隔で測定した。ワクチン投与ペプチドおよび免疫応答を下記表２にまとめた。併用療法中、免疫応答をモニターした全患者１１名は、細胞性応答または液性応答のいずれかが増強された。ペプチド特異的ＣＴＬ前駆体の増加が患者１１名中６名（症例２、５、７、８、１０および１２）に観察され、一方ペプチド特異的ＩｇＧの誘導が患者１１名中１０名（症例３、４、５、７、８、１０、１１、１２および１３）に観察された。図１は、ＩＮＦ－γ産生と、各患者に投与したペプチドに特異的なＩｇＧのレベルとの双方の経時変化を示す。

【００３２】

エストラムスチンが誘導した免疫抑制もまた、患者１１名中１０名で、ＰＨＡ、ＥＢＶペプチドおよびワクチン投与ペプチドに対するＩＮＦ－γ産生を測定することにより解析した。症例１３では、検定するには入手したＰＢＭＣが少なすぎたので、免疫モニタリングをしなかった。ＰＨＡ、ＥＢＶペプチドおよびワクチン投与したペプチドに対する応答（ＩＮＦ－γ産生）は、おのおの休止Ｔ細胞、記憶Ｔ細胞および活性化Ｔ細胞によって仲介されることが示唆されている。各症例のモニタリング結果を図２に示す。症例２および症例３は、はじめ全用量（５６０ｍｇ／日）のエストラムスチンリン酸塩と併用して処置したが、免疫学的モニタリングで重度の免疫抑制が示された。この免疫抑制は、エストラムスチンリン酸塩の投与中断によって回復した。ペプチドとエストラムスチンリン酸塩の半用量とを投与した場合には、８症例のいずれにおいても顕著な免疫抑制がなかった（図２）。

【００３３】

本研究の結果は、転移性ＨＲＰＣ患者における、ペプチドワクチン投与および低用量エストラムスチンリン酸塩（２８０ｍｇ／日）の併用の利点を示唆する。本研究は、転移性ＨＲＰＣ患者全員において、ペプチドワクチン投与および低用量のエストラムスチンリン酸塩の併用療法の間、細胞性および液性応答が十分維持されることを証明した。本研究の結果、ペプチド特異的ＣＴＬ前駆体の増加が患者１１名中６名で観察され、ペプチド特異的ＩｇＧの誘導が患者１１名中１０名で観察されることが示された。ペプチドと低用量エストラムスチンリン酸塩を投与した場合には、患者１１名のいずれにおいても顕著な免疫抑制は見られなかった。この小規模な研究から得た結果を確認するため、比較的多数の患者についての追加的研究が推奨される。

【００３４】
臨床的応答
ペプチドワクチン投与および経口エストラムスチンリン酸塩の併用に対する臨床的応答を表３にまとめた。患者１１名中１０名（９１％）で、処置後に血清ＰＳＡレベルがベースラインから低下し、その中で患者８名（７３％）では血清ＰＳＡレベルの低下は≧５０％に達した。各症例の併用療法期間中におけるＰＳＡレベルの経時変化を図３に示す。事前のエストラムスチンリン酸塩による化学療法には反応しなかった患者８名全員で、ＰＳＡの応答が認められた。測定可能な疾患を有する患者２名中１名では、ＣＴでリンパ節転移の４４％の減少が見られた（図４）。この患者は現在も≧５０％のＰＳＡ減少を保ち、生存している（症例１２）。患者１０名では骨転移があった。骨転移の改善はなかったが、骨転移のある患者１０名中１名が、≧５０％の血清ＩＣＴＰレベルの低下を示した。
【００３５】
現在患者３名が死亡したが、死因は全て前立腺癌または転移であった。全患者の追跡調査中央値は１４ヶ月、範囲は８ヶ月～２４ヶ月であった。生存率中央値は計算していない。１２ヶ月の時点で、患者の６４％が生存していた。
【００３６】
全般的応答率（７３％）は血清ＰＳＡレベルの≧５０％の低下と定義したが、これは、既報の免疫療法（たとえばインターフェロン－αおよびインターロイキン－２の併用（３１％）［３２］または前立腺特異的膜抗原のペプチドで処理した樹状細胞の点滴（２７％）［１１、１２］）の第Ｉ／ＩＩ相試験の報告に見られるものよりも明らかに高い。さらに、この値は併用療法に関する化学療法臨床試験（たとえば、エストラムスチンおよびパクリタキセル（５３％）［６］、エストラムスチンおよびドセタキセル（６２％）［７］、およびエストラムスチン、パクリタキセルおよびカルボプラチンの三剤併用（６７％）［８］）について最近報告された応答率にも匹敵する。測定可能な疾患については、全般的応答率はこれら化学療法治療計画で報告された値よりもいくらか低いと思われるが、それは本研究の患者はほとんど測定可能な軟部組織疾患を持たなかったことによる。大部分の患者は、骨代謝マーカー（ＩＣＴＰ）（骨転移のある前立腺癌患者で骨転移をモニターするための方法として提案されている［３３］）が減少したが、骨スキャンでは骨転移の改善は見られなかった。この矛盾点の説明は、骨スキャンが低感度な手段である点、または治療に対してより抵抗性である可能性のある骨中の疾患に影響を与えるには処置期間が短すぎた点にあるかもしれない。
【００３７】
毒性
全患者１３名を毒性評価の対象とした。処置した患者１３名で報告された毒性を表４にまとめた。この併用療法は安全かつ良好に耐容され、殆どの症例で重大な副作用はなかったが、グレード３の不整脈と脳梗塞が各症例で観察された。患者１名（症例４）はグレード３の不整脈を起したが、その不整脈はエストラムスチンの中断によって消失した。１４ヶ月の併用療法後にグレード３の脳梗塞で入院した患者（症例７）では抗凝固剤での処置に成功し、他に重大な毒性なしに併用療法を継続中である。最も一般的な毒性は、全症例においてワクチン投与の注射局部における皮膚反応であった。全１３の皮膚反応は米国癌研究所の通常毒性評価基準によりグレード１または２であると評点された。患者７名は骨痛を訴え、患者４名はグレード２の血尿を発症し、患者３名は疲労を訴えた。血液、肝臓または腎臓の毒性はなかった。
【００３８】
ここに報告する本併用療法の毒性は弱く、この処置法は転移性ＨＲＰＣに罹患した老年男性（年令中央値７１才）の処置によいと考えられる。最も一般的な毒性はワクチン注射局部における皮膚反応であった。重要なことは、エストラムスチンに基づく、またはタキサンに基づく化学療法において用量を制限する毒性であると報告されている血液学的毒性も神経障害も［４～８］なかったことである。エストラムスチン処置の一般的毒性には、悪心、嘔吐、末梢浮腫および脈管系イベントが含まれる［１６］。本併用療法は安全であ

り、良好に耐容されることが見出された。

【００３９】

患者指向性のワクチン投与と低用量エストラムスチンリン酸塩との併用では、検討した患者の７３％で血清ＰＳＡレベルに≧５０％の低下が見られ、また主に事前に集中治療を受けた転移性ＨＲＰＣのある高齢の患者においても低毒性であった。これらの予備的知見に基づき、この併用についてより大規模な第ＩＩ相臨床試験が認可された。

【００４０】

（実施例２）

患者および方法

下記の諸点を除き、実施例１と実質的に同様な手法を採用した。

【００４１】

患者

２００２年３月～２００３年１月の間に、ＨＬＡ－Ａ２４陽性転移性ＨＲＰＣ患者１６名で第Ｉ／ＩＩ相試験を行った。患者１３名において、少なくとも第３回目のペプチドワクチン投与後に病状が増悪した場合に、それに続いてペプチドワクチン投与および低用量エストラムスチンリン酸塩の併用療法を行った。残る患者３名は、病状が急速に増悪して死に至ったのでワクチン療法のみであった。表５に本研究のＨＲＰＣ患者１６名の臨床的特性をまとめた。

【００４２】

患者指向性ペプチドワクチン投与法

この研究には、上皮癌関連抗原および前立腺関連抗原に由来する下記のペプチド１６種を使用した：すなわち、$SART1_{690-698}$（ＥＹＲＧＦＴＱＤＦ）、$SART2_{93-101}$（ＤＹＳＡＲＷＮＥＩ）、$SART2_{161-169}$（ＡＹＤＦＬＹＮＹＬ）、$SART2_{899-907}$（ＳＹＴＲＬＦＬＩＬ）、$SART3_{109-118}$（ＶＹＤＹＮＣＨＶＤＬ）、$SART3_{315-323}$（ＡＹＩＤＦＥＭＫＩ）、$Lck_{208-216}$（ＨＹＴＮＡＳＤＧＬ）、$Lck_{486-487}$（ＴＦＤＹＬＲＳＶＬ）、$Lck_{488-497}$（ＤＹＬＲＳＶＬＥＤＦ）、$ART1_{170-179}$（ＥＹＣＬＫＦＴＫＬ）、前立腺酸性ホスフェート（ＰＡＰ）$_{213-221}$（ＬＹＣＥＳＶＨＮＦ）、$PSA_{152-160}$（ＣＹＡＳＧＷＧＳＩ）、$PSA_{248-257}$（ＨＹＲＫＷＩＫＤＴＩ）、前立腺特異的膜抗原（ＰＳＭＡ）$_{624-632}$（ＴＹＳＶＳＦＤＳＬ）、多剤耐性関連タンパク質３（ＭＲＰ３）$_{503-511}$（ＬＹＡＷＥＰＳＦＬ）、およびＭＲＰ$3_{1293-1302}$（ＲＹＬＴＱＥＴＮＫＶ）。これらのペプチドは全て癌患者でＰＢＭＣにＨＬＡ－Ａ２４拘束性および腫瘍特異的ＣＴＬ活性を誘導する能力を有する（１５、１９、２０、３４～４１）。全患者に、ワクチン投与前測定によってペプチド候補１６種の中から選択したペプチドを４種までワクチン投与した。

【００４３】

併用療法

エストラムスチンリン酸塩は１４０ｍｇカプセルを１カプセルずつ１日２回、合計２８０ｍｇを経口投与して、併用療法における重度の免疫抑制を回避した。

【００４４】

臨床的モニタリング

この処置の間、日本語版「癌療法の機能的評価」（ＦＡＣＴ－Ｐ）サブスケール、ＦＡＣＴ－Ｐ（前立腺癌用）（４２）を用いて、患者のＱＯＬをワクチン投与前および第３回目、第６回目および第１２回目のワクチン投与の時点で評価した。このＦＡＣＴ－Ｐ質問表は身体的健康（７項目）、社会的／家族的健康（８項目）、情動的健康（６項目）、機能的健康（７項目）および前立腺癌スケール（１２項目）を含む５因子から構成される。ＱＯＬの結果は各スケールの百分率によって別個に評価した。

【００４５】

結果

併用療法中の免疫学的応答

ペプチドワクチン投与の前にペプチド特異的ＣＴＬ前駆体を調べたところ、患者１６例中１４例で検出可能であり、患者当りの陽性数中央値は１．５ペプチド（範囲０～４ペプチド）であった（表６）。更に、抗ペプチドＩｇＧも患者１６例中１４例で検出可能であり、患者当りの陽性数中央値は３ペプチド（０～４ペプチド）であった。最大４ペプチドを選択して各患者に注射し、その選択の結果を表６に示す。最大の頻度で選択したペプチドは$PSA_{248-257}$（１３／１６）であり、続いて$PAP_{213-221}$（１１／１６）、$SART3_{109-118}$（１１／１６）、$SART3_{315-323}$（６／１６）、$PSA_{152-160}$（５／１６）、$Lck_{488-497}$（５／１６）、$SART1_{690-698}$（３／１６）、$SART2_{93-101}$（３／１６）、および$Lck_{208-216}$（３／１６）を選択した。$PSMA_{624-628}$および$SART2_{161-169}$は各患者で選択したが、ＳＡＲＴ２、Ｌｃｋ、ＡＲＴ１およびＭＲＰ３に由来する残りのペプチド５種は、これらの患者では選択しなかった。ペプチド特異的ＣＴＬ前駆体またはペプチド特異的ＩｇＧの増加は、１２週目（ペプチドワクチン投与単独）に患者１４名中１０名または患者１４名中患者７名で観察され、２４週目（併用療法中）には患者８名中６名または患者１２名中１０名で観察された。ＰＢＭＣ中のペプチド特異的ＣＴＬ前駆体に関する代表的結果を図５に示す。図６は各患者に投与したペプチドに特異的なＩｇＧレベルの段階的変化を示す。ＤＴＨ応答は患者１６名中４名で観察され、その概要を表６に示す。

【００４６】

ペプチドと半量（２８０ｍｇ／日）のエストラムスチンとを投与した場合には、ほとんどの症例で顕著な免疫抑制は認められなかった。

【００４７】

臨床的応答

患者１６名中患者２名は併用療法の前に腫瘍が急速に増悪し、残りの患者１名はワクチン投与単独で血清ＰＳＡレベルが≧５０％低下した後に併用療法についての同意を撤回した。残りの患者１３名がワクチン投与および低用量エストラムスチンリン酸塩の併用療法を受け、臨床的応答を評価した。全患者１３名において、併用療法終了後に血清ＰＳＡレベルがベースラインから低下し、患者１３名中６名（４６％）は、≧５０％の血清ＰＳＡレベルの低下を中央値７．５ヶ月（範囲３～１３ヶ月）の期間示した。しかし、これらの患者１３名は治療に対して他覚的応答を示さなかった。

【００４８】

疾患の増悪した患者は余命が短く、すぐに治癒する望みがないので、身体的病状の軽減および機能の維持が医学的処置の第一目的となる［４３］。この研究では、処置期間内の患者１６名のＱＯＬの結果を、ワクチン投与前（患者１６名）および第３回目ワクチン投与（患者１６名）、第６回目ワクチン投与（患者１３名）および第１２回目ワクチン投与（患者７名）の時点で、ＦＡＣＴ－ｐの日本語版質問表を用いて評価した。図７は観測点における各因子についてのスケール百分率の平均値を示す。処置期間中、全因子についてＱＯＬの結果は低下しなかった。

【００４９】

毒性

患者１６名全員を一般的毒性について評価し、全体の毒性を表７に示す。ここに報告する併用療法の毒性は耐容可能であり、この処置は大部分の転移性ＨＲＰＣを処置するために使用可能と考えられる。

【００５０】

（実施例３）

実施例１に示したように、全用量（５６０ｍｇ／日）のエストラムスチンリン酸塩では重度の免疫抑制が観察された。エストラムスチンリン酸塩の用量からみた本発明による併用療法の結果を、表８にまとめた。エストラムスチンリン酸塩２８０ｍｇ／日（最大非免疫抑制用量）を使用する併用療法においては、ペプチドワクチン投与単独療法では病状の増悪を示したＨＲＰＣの患者に、免疫学的応答の増加および臨床的応答の改善が観察され

た。これらの結果は、低用量エストラムスチンとペプチドワクチン投与との併用が示す有利な効果を裏付ける。

【００５１】

（実施例４）

表９もまた、本併用療法がこれまでの治療法と比較して優れた効果を有することを証明する。全症例が事前のエストラムスチンリン酸塩療法には応答せず、その病状はワクチン投与単独後に増悪した（ＰＤ）。併用療法により、殆どの症例で臨床的応答がＰＲ（部分応答）またはＳＤ（病状安定）まで改善され、ＨＲＰＣ患者の生存は著しく延長された（生存期間中央値：２５ヶ月）。

【００５２】

［考察］

様々なステージの前立腺癌における腫瘍抗原の発現を明確にすることは、特異的免疫療法の標的を選択するためにきわめて重大な第一段階である［２８～３０］。ＨＲＰＣ患者に対する免疫療法における本方法は、癌患者の循環血中にあるペプチド特異的ＣＴＬ前駆体のワクチン投与前測定に続いて、ワクチン候補のうちワクチン投与前測定で反応したペプチドを４種まで投与するという新戦略を採用した（患者指向性ワクチン投与）。以前に行った第Ｉ相試験の結果は、患者指向性ワクチン投与が、実現可能、安全、かつ免疫学的に有効であるが、臨床的応答は一般に限定的であることを示した［１５］。近年、細胞の悪性転化がＨＬＡクラスＩの発現の変化および／または機能の変化に関連していること、およびこの異常性が免疫認識から逃れる手段を腫瘍細胞に提供することがあることが知られている。良性組織の正常ＨＬＡクラスＩの発現とは対照的に、原発性前立腺癌細胞の３４％およびリンパ節転移した前立腺癌細胞の８０％ではＨＬＡクラスＩ発現の完全な喪失が報告された［３１］。それ故、前立腺癌におけるＨＬＡクラスＩ抗原の発現低下は、悪性腫瘍細胞にＴ細胞による認識から逃れる機序を提供することにより、Ｔ細胞に基づく免疫療法の結果にマイナスの影響を与える可能性がある。Ｔ細胞に基づく免疫療法と免疫抑制が最低の細胞毒性物質との併用によって、相加的抗腫瘍効果が達成され得ることが示唆される。本研究では、エストラムスチンリン酸塩またはペプチドワクチン投与の前に病状の増悪を経験した患者にもＰＳＡ応答が観察され、この事実は本併用療法が相加的抗腫瘍効果によって機能するという仮説を支持している。しかし、この相互作用の正確な機序はまだ不明である。この機序についてはさらなる研究が必要である。

【００５３】

［文献］

1. Tannock IF, Osoba D, Stockler MR, Ernst DS, Neville AJ, Moore MJ, Armitage G R, Wilson JJ, Venner PM, Coppin CM, Murphy KC. Chemotherapy with mitxantrone plus prednisone or prednisone alone for symptomatic hormone-resistant prostate cancer: A Canadian randomized trial with palliative end points. J Clin Oncol 1996; 14: 1756-1764.

2. Kantoff PW, Halabi S, Conaway M, Picus J, Kirshner J, Hars V, Trump D, Winer EP, Vogelzang NJ. Hydrocortisone with or without mitoxantrone in men with hormone-refractory prostate cancer: Results of the cancer and leukemia group B 9182 study. J Clin Oncol 1999; 17: 2506-2513.

3. Hudes G, Einhorn L, Ross E, Balsham A, Loehrer P, Ramsey H, Sprandio J, Entmacher M, Dugan W, Ansari R, Monaco F, Hanna M, Roth B. Vinblastine versus vinblastine plus oral estramustine phosphate for patients with hormone-refractory prostate cancer: a Hoosier Oncology Group and Fox Chase Network phase III trial. J Clin Oncol 1999; 17: 3160-3166.

4. Smith DC, Esper P, Strawderman M, Redman B, Pienta KJ. Phase II trial of oral estramustine, oral etoposide, and intravenous paclitaxel in hormone-refractory prostate cancer. J Clin Oncol 1999; 17: 1664-1671.

5. Beer TM, Pierce WC, Lowe BA, Henner WD. Phase II study of weekly docetaxel

in symptomatic androgen-independent prostate cancer. Ann Oncol 2001; 12: 1273-1279.
6. Hudes GR, Nathan F, Khater C, Haas N, Cornfield M, Giantonio B, Greenberg R, Gomella L, Litwin S, Ross E, Roethke S, McAleer C. Phase II trial of 96-hour paclitaxel plus oral estramustine phosphate in metastatic hormone-refractory prostate cancer. J Clin Oncol 1997; 15: 3156-3163.
7. Ellerhorst JA, Tu SM, Amato RJ, Finn L, Millikan RE, Pagliaro LC, Jackson A, Logothetis CJ. et al: Phase II trial of alternating weekly chemohormonal therapy for patients with androgen-independent prostate cancer. Clin Cancer Res 1997; 3: 2371-2376.
8. Kelly WK, Curley T, Slovin S, Heller G, McCaffrey J, Bajorin D, Ciolino A, Regan K, Schwartz M, Kantoff P, George D, Oh W, Smith M, Kaufman D, Small EJ, Schwartz L, Larson S, Tong W, Scher H. Paclitaxel, estramustine phosphate, and carboplatin in patients with advanced prostate cancer. J Clin Oncol 2001; 19: 44-53.
9. van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, De Plaen E, Van den Eynde B, Knuth A, Boon T. A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science 1991; 254: 16431647.
10. Kawakami Y, Eliyahu S, Sakaguchi K, Robbins PF, Rivoltini L, Yannelli JR, Appella E, Rosenberg SA. Identification of the immunodominant peptides of the MART-1 human melanoma antigen recognized by the majority of HLA-A2-restricted tumor infiltrating lymphocytes. J Exp Med 1994; 180: 347-352.
11. Tjoa BA, Simmons SJ, Bowes VA, Ragde H, Rogers M, Elgamal A, Kenny GM, Cobb OE, Ireton RC, Troychak MJ, Salgaller ML, Boynton AL, Murphy GP. Evaluation of phase I/II clinical trials in prostate cancer with dendritic cells and PSMA peptides. Prostate 1998; 36: 39-44.
12. Salgaller ML, Lodge PA, McLean JG, Tjoa BA, Loftus DJ, Ragde H, Kenny GM, Rogers M, Boynton AL, Murphy GP. Report of immune monitoring of prostate cancer patients undergoing T-cell therapy using dendritic cells pulsed with HLA-A2-specific peptides from prostate-specific membrane antigen (PSMA). Prostate 1998; 35: 144-151.
13. Mine T, Gouhara R, Hida N, Imai N, Azuma K, Rikimaru T, Katagiri K, Nishikori Misa, Sukehiro A, Nakagawa M, Yamada A, Aizawa H, Shirozu K, Itoh K, and Yamana H. Immunological evaluation of CTL precursor-oriented vaccine for advanced lung cancer patients. Cancer Sci 2003; 94: 548-556.
14. Tanaka S, Harada M, Mine T, Noguchi M, Gohara R, Azuma K, Yamada A, Morinaga A, Nishikori M, Katagiri K, , Itoh K, Yamana H and Hashimoto T.: Peptide vaccination for patients with melanoma and other types of cancers based on pre-existing peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in periphery. J Immunother (in press)
15. Noguchi M, Kobayashi K, Suetugu N, Tomiyasu K, Suekane S, Yamada A, Itoh K, Noda S. Induction of cellular and humoral immune responses to tumor cells and peptides in HLA-A24 positive hormone-refractory prostate cancer patients by peptide vaccination. Prostate (in press)
16. Perry CA and McTavish D. Estramustine phosphate sodium. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in prostate cancer. Drugs and Aging 1995; 7: 49-74.
17. Shichijo S, Nakao M, Imai Y, Takasu H, Kawamoto M, Niiya F, Yang D, Toh Y, Yamana H, Itoh K. A gene encoding antigenic peptides of human squamous cell carcinoma recognized by cytotoxic T lymphocytes. J Exp Med 1998; 187: 277-288.

18. Nakao M, Shichijo S, Imaizumi T, Inoue Y, Matsunaga K, Yamada A, Kikuchi M, Tsuda N, Ohta K, Takamori S, Yamana H, Fujita H, Itoh K. Identification of gene coding for a new squamous cell carcinoma antigen recognized by the CTLs. J Immunol 2000; 164: 2565-2574.
19. Yang D, Nakao M, Shichijo S, Sasatomi T, Takasu H, Matsumoto H, Mori K, Hayashi A, Yamana H, Shirouzu K, Itoh K. Identification of a gene coding for a protein possessing shared tumor epitopes capable of inducing HLA-A24-restructed cytotoxic T lymphocytes in cancer patients. Cancer Res 1999; 59: 4056-4063.
20. Gomi S, Nakao M, Niiya F, Imamura Y, Kawano K, Nishizaka S, Hayashi A, Soba o Y, Oizumi K, Itoh K. A cyclophilin B gene encodes antigenic epitopes recognized by HLA-A24-restricted and tumor-specific cytotoxic T lymphocytes. J Immunol 1999; 163: 4994-5004.
21. Maeda Y, Ito M, Harashima N, Nakatsura T, Hida N, Imai N, Sato Y, Shichijo S, Todo S, Itoh K. Cleavage and polyadenylation specificity factor (CPSF)-derived peptides can induce HLA-A2-restricted and tumor-specific CTLs in the majority of gastrointestinal cancer patients. Int J Cancer 2002; 99: 409-417.
22. Suzuki N, Maeda Y, Tanaka S, Hida N, Mine T, Yamamoto K, Oka M, Itoh K. Detection of peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors used for specific immunotherapy of pancreatic cancer. Int J Cancer 2002; 98: 45-50.
23. Miyagi Y, Imai N, Sasatomi T, Yamada A, Mine T, Katagiri K, Nakagawa M, Mut o A, Okouchi S, Isomoto H, Shirouzu K, Yamana H, Itoh K. Induction of cellular immune response to tumor cells and peptides in colorectal cancer patients by vaccination with SART3 peptides. Clin Cancer Res 2001; 7: 3950-3962.
24. Hida N, Maeda Y, Katagiri K, Takasu H, Harada M, Itoh K. A simple culture protocol to detect peptide-specific cytotoxic T lymphocyte precursors in circulation. Cancer Immunol Immunotherapy 2002; 51: 219-228.
25. Noguchi M and Noda S: Pyridinoline cross-linked carboxyterminal telopeptide of type I collagen as a useful marker for monitoring metastatic bone activity in men with prostate cancer. J Urol 2001; 166: 1106-1110.
26. Noguchi M, Kikuchi H, Ishibashi M, Noda S. Percentage of the positive area of bone metastasis is an independent predictor of thedisease death in advanced prostate cancer. Br J Cancer 2003; 88: 195-201.
27. Mitcell MS. Chemotherapy in combination with biomodulation: a 5 year experience with cyclophosphamide and IL-2. Semin Oncol 1992; 19 (suppl 2): 80-87.
28. Zhang S, Cordon-Cardo C, Zhang HS, Reuter VE, Adluri S, Hamilton WB, Lloyd KO, and Livingston PO. Selection of tumor antigens as targets for immune attack using immunohistochemistry. I. Focus on gangliosides. Int J Cancer 1997; 73: 42-49.
29. Zhang S, Zhang HS, Cordon-Cardo C, Reuter VE, Singhal AK, Lloyd KO, and Livingston PO. Selection of tumor antigens as targets for immune attack using immunohistochemistry. II. Blood group-related antigens. Int J Cancer 1997; 73: 50-56.
30. Zhang S, Zhang HS, Reuter VE, Slovin SF, Scher HI, Livingston PO. Expression of potential target antigens for immunotherapy on primary and metastatic prostate cancers. Clin Cancer Res 1998; 4: 295-302.
31. Blades RA, Keating PJ, McWilliam LJ, George NJ, Stern PL. Loss of HLA class I expression in prostate cancer: implications for immunotherapy. Urology 1995; 46: 681-687.
32. Maffezzini M, Simonato A, Fortis C. Salvage immunotherapy with subcutaneous recombination interleukin 2 (rIL-2) and alpha-interferon (A-INF) for stage D3

prostate carcinoma failing second-line hormonal treatment. Prostate 1996; 28: 282-286.
33. Noguchi M, Yahara J, and Noda S: Serum levels of bone turnover markers parallel the results of bone scintigraphy in monitoring bone activity of prostate cancer. Urology 2003; 61: 993-998.
34. Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Yao A, Suetsugu N, Katagiri K, Yamada A, Yamana H, and Noda S. Phase I trial of patient-oriented vaccination in HLA-A2 positive patients with metastatic hormone refractory prostate cancer. Cancer Sci 2004;95:77-84.
35. Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Morinaga A, Sukehiro A, Suetsugu N, Katagiri K, Yamada A, and Noda S. Immunological Monitoring during Combination of Patient-Oriented Peptide Vaccination and Estramustine Phosphate in Patients with Metastatic Hormone Refractory Prostate Cancer. Prostate 2004;60:32-45.
36. Inoue Y, Takaue Y, Takei M, Kato K, Kanai S, Harada Y, Tobisu K, Noguchi M, Kakizoe T, Itoh K, and Wakasugi H. Induction of tumor specific cytotoxic T lymphocytes in prostate cancer using prostatic acid phosphatase derived HLA-A2402 binding peptide. J Urol 2001;166:1508 -1513.
37. Harada M, Kobayashi K, Matsueda S, Nakagawa M, Noguchi M, and Itoh K. Prostate-specific antigen-derived epitopes capable of inducing cellular and humoral responses in HLA-A24+ prostate cancer patients. Prostate 2003;57:152-159.
38. Kobayashi K, Noguchi M, Itoh K, and Harada M. Identification of a prostate-specific membrane antigen-derived peptide capable of eliciting both cellular and humoral immune responses in HLA-A24+ prostate cancer patients. Cancer Sci 2003;94:622-627.
39. Harada M, Noguchi M, Itoh K. Target molecules in specific immunotherapy against prostate cancer. Int J Clin Oncol 2003;8:193-199.
40. Harashima N, Tanaka K, Sasatomi T, Shimizu K, Miyagi Y, Yamada A, Tamura M, Yamana H, Itoh K, and Shichijo S. Recognition of the Lck tyrosine kinase as a tumor antigen by cytotoxic T lymphocytes of cancer patients with distant metastases. Eur J Immunol 2000;31:323-332.
41. Kawano K, Gomi S, Tanaka K, Tsuda N, Kamura T, Itoh K, and Yamada A. Identification of a new endoplasmic reticulum-resident proteine recognized by HLA-A-24 restricted tumor infiltrating lymphocytes of lung cancer. Cancer Res 2000;60:3550-3558.
42. Esper PMoF, Chodak G., Sinner M, Cella D, and Pienta KJ. Measuring quality of life in men with prostate cancer using the functional assessment of cancer therapy-prostate instrument. Urology 1997;50:920-928.
43. Coons SJ, Kaplan RM. Assessing health-related quality-of-life: application to drug therapy. Clin Ther 1992;14:850-858.

【００５４】

【表１】

表１：患者特性

患者数	11
年齢（年）	
中央値	71
範囲	57-75
ＥＯＣＧパフォーマンス・ステータス（n）	
0	8
1	3
ＨＬＡタイプ（n）	
A24	4
A2	7
血清ＰＳＡレベル（ng/ml）	
中央値	330
範囲	27-1072
血清ＩＣＴＰレベル（ng/ml）	
中央値	6.2
範囲	3.0-15.3
転移部位（n）	
骨のみ	9
骨および結節／組織	1
結節／組織	1
エストラムスチンリン酸塩の事前使用（n）	
あり	8
なし	3

【表２－１】

表２：併用療法中の免疫応答

症例（患者番号）	HLA タイプ	ペプチド	配列	併用療法中のペプチドに対する細胞性応答[a]			併用療法中の抗ペプチドIgG[b]			DTH誘導
				前	6回目	12回目	18回目	前	6回目	12回目	18回目	
2	A-24	lck 488-497	DYLRSVLEDF	ArAB	-	AC	-	-	-	-	-	-
(010)		SART 2 93-101	DYSARWNEI	C	-	-	-	-	-	-	-	-
		SART 2 161-169	AYDFLYNYL	A	-	AAC	ArArAA	-	-	-	-	+(20)
		ART 1 170-179	EYCLKFTKL	A	C	AAA	A	++	++	++	++	+(17)
		lck 208-216	HYTNASDGL	-	-	-	-	-	-	-	-	+(16)
		SART 3 315-323	AYIDFEMKI	-	-	Ar	ArArArB	-	-	-	-	-
3	A-24	SART 2 93-101	DYSARWNEI	-	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	-
(014)		SART 3 109-118	VYDYNCHVDL	ArAA	ArA	n.a.	n.a.	+	++	n.a.	n.a.	-
		SART 3 315-323	AYIDFEMKI	AC	A	n.a.	n.a.	+	+	n.a.	n.a.	-
		CyB 91-99	DFMIQGGDF	-	C	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	-
		lck 208-216	HYTNASDGL	A	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	-
		lck 488-497	DYLRSVLEDF	C	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	-
4	A-24	ART 1 170-179	EYCLKFTKL	A	A	-	-	++	++	++	++	+(21)
(016)		lck 488-497	DYLRSVLEDF	B	-	-	-	-	-	-	+	+(23)
		SART 3 109-118	VYDYNCHVDL	-	-	B	-	-	+	++	++	+(21)
		SART 2 161-169	AYDFLYNYL	-	Ar	B	-	-	-	-	-	-

【表２－２】

表２（続き）

5	A-24	SART 2 $_{161-169}$	AYDFLYNYL	A	-	-	ArA	-	-	-	-	-	+ (8)
(019)		SART 2 $_{899-907}$	SYTRLFLIL	A	-	-	A	-	-	-	-	-	+ (7)
		SART 3 $_{109-118}$	VYDYNCHVDL	ArArArA	ArArArA	ArArArA	ArArAA	-	-	-	-	+	+ (8)
		lck $_{208-216}$	HYTNASDGL	A	AA	-	-	-	-	-	-	+	+ (5)
		lck $_{486-497}$	DYLRSVLEDF	-	ABB	-	-	-	+	+	+	+	+ (6)
7	A-2	ppMAPkkk $_{432-440}$	DLLSHAFFAI	-	C	-	n.a.	+	++	++	n.a.	n.a.	+ (32)
(104)		lck $_{246-254}$	KLVERLGAA	-	-	B	n.a.	++	++	++	n.a.	n.a.	+ (31)
		lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	A	AB	-	n.a.	-	+	+	n.a.	n.a.	+ (31)
		UBE2V $_{43-51}$	RLQEWXSVIL	-	ACC	ArArArA	n.a.	++	++	++	n.a.	n.a.	+ (11)
		HNRPL $_{140-148}$	ALVEFEDVL	AAC	AC	ArArArA	n.a.	-	++	+	n.a.	n.a.	-
		HNRPL $_{501-510}$	NVLJFFNAPL	-	AAA	ArArAc	n.a.	-	++	++	n.a.	n.a.	-
8	A-2	lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	Ar	-	-	C	-	-	-	-	-	+ (3)
(108)		ppMAPkkk $_{294-302}$	GLLFLHTRTI	CC	-	-	-	-	+	+	+	+	+ (2)
		ppMAPkkk $_{432-440}$	DLLSHAFFAI	ArA	A	-	-	-	-	+	+	+	+ (3)
		HNRPL $_{501-510}$	NVLJFFNAPL	-	AB	E	ArA	-	-	-	-	+	+ (17)
		CypB $_{172-179}$	VLEGMEVV	A	-	-	B	-	+	+	+	+	-
		EIF4EBP1 $_{51-59}$	RHYDRKFL	-	-	A	B	-	-	-	-	+	-
9	A-2	lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	C	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	+ (5)
(111)		ppMAPkkk $_{294-302}$	GLLFLHTRTI	A	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	+ (5)
		ppMAPkkk $_{432-440}$	DLLSHAFFAI	A	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	+ (6)
		WHSC2 $_{103-111}$	ASLDSDPWV	CC	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
		HNRPL $_{501-510}$	NVLJFFNAPL	A	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-
		CypB $_{129-138}$	KLKHYGPGWV	-	-	n.a.	n.a.	-	-	n.a.	n.a.	n.a.	-

【表２－３】

表２（続き）

10	A-2	SART 3 $_{309-317}$	RLAEYQAYI	A	Ar	Ar	ArAC	-	-	-	+	-
(112)		CypB $_{172-179}$	VLEGMEVV	A	-	-	A	-	+	+	+	-
		lck $_{246-254}$	KLVERLGAA	-	-	-	ArAAA	-	-	-	-	-
		lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	-	C	-	ArAAA	-	+	+	-	-
		ppMAPkk $_{294-302}$	GLLFLHTRTI	-	C	-	ArArAA	-	-	-	-	-
		UBE2V $_{85-93}$	LIADFLSGLI	-	-	A	AC	-	-	+	+	-
11	A-2	CypB $_{129-138}$	KLKHYGPGWV	A	-	-	n.a.	-	-	-	n.a.	+ (6)
(113)		lck $_{246-254}$	KLVERLGAA	A	-	-	n.a.	-	++	++	n.a.	-
		lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	A	A	C	n.a.	-	-	-	n.a.	-
		ppMAPkk $_{294-302}$	GLLFLHTRTI	-	-	C	n.a.	+	++	++	n.a.	+ (6)
		UBE2V $_{43-51}$	RLQEWXSVIL	AAA	-	-	n.a.	-	++	++	n.a.	+ (10)
12	A-2	CypB $_{129-138}$	KLKHYGPGWV	-	A	-	n.a.	-	-	+	n.a.	-
(115)		lck $_{246-254}$	KLVERLGAA	BB	A	B	n.a.	++	++	++	n.a.	-
		WHSC2 $_{141--}$	ILGELREKV	AB	-	-	n.a.	-	-	-	n.a.	-
		UBE2V $_{43-51}$	RLQEWXSVIL	AAAB	-	A	n.a.	-	++	++	n.a.	+ (19)
		HNRPL $_{501-510}$	NVLJFFNAPL	ArAr	ArArArAr	ArArAr	n.a.	+	+	++	n.a.	+ (19)
		EIF4EBP1 $_{51-59}$	RIIYDRKFL	-	-	A	n.a.	+	++	++	n.a.	-

【表２－４】

表２（続き）

I3	A-2	CypB $_{172-179}$	VLEGMEVV	-	-	A	n.a.	+	+	+	n.a.	-
(116)		lck $_{246-254}$	KLVERLGAA	ArC	AC	ArAA	n.a.	++	++	++	n.a.	-
		lck $_{422-430}$	DVWSFGILL	Ar	AAA	-	n.a.	+	-	-	n.a.	-
		UBE2V $_{43-51}$	RLQEWXSVIL	ArA	AA	C	n.a.	+	+	++	n.a.	-
		ppMAPkk $_{432-440}$	DLLSHAFFAI	-	A	-	n.a.	-	+	+	n.a.	+(17)

[a]CTL前駆体検定を行い、以下の基準に従って各ウェルを評価した。最大4ペプチド投与した。
Ar：p[*]≦0．1および500≦純産生量[**]、A：p≦0．05および50≦純産生量、B：p≦0．05および25≦純産生量<50、C：0．05<p<0．1および50≦純産生量。
[*]p値（スチューデントt検定）、[**]特異的IFNγ産生（pg/ml）はHIV由来の無関係なペプチドに対する応答を差し引いて計算した。
AAAA：四重反復検定の4ウェル全てが陽性。
AAA：四重反復検定の3ウェルが陽性。
AA：四重反復検定の2ウェルが陽性。
A：四重反復検定の1ウェルが陽性。
[b]－なし、＋あり（タイター低）、＋＋あり（タイター高）

【表３】

表3：併用療法中のPSA、ICTP、骨スキャンおよび測定可能な疾患の最良の応答

応答のタイプ（評価可能な患者数）	患者数（%）
PSA応答（n=11）	
≧50%減少	8 (73)
<50%減少	2 (18)
合計	10 (91)
ICTP応答（n=10）	
≧50%減少	1 (10)
<50%減少	8 (80)
合計	9 (90)
骨スキャン応答（n=10）	
%PABSの≧50%減少	0
%PABSの<50%減少	0
合計	0
測定可能な疾患の応答	
≧50%減少	0
<50%減少	1 (50)
合計	1 (50)

【表４】

表4：患者志向性ワクチン投与および経口エストラムスチンの併用の有害事象

	グレード[a]				
毒性	1	2	3	4	合計
皮膚	10	3			13
骨痛	3	4			7
血尿		4			4
疲労	1	2			3
吐き気	2				2
下痢	2				2
胸痛	2				2
浮腫	2				2
不整脈			1		1
脳梗塞			1		1
熱	1				1

[a]毒性は、米国癌研究所の一般的毒性スケールに基づく。数人の患者が2以上の毒性反応を示した。

【表５】

表5：患者特性

	ワクチン単独	ワクチン＋エストラムスチンリン酸塩	合計
患者数	3	13	16
年齢（年）			
中央値	69	69	69
範囲	61-73	54-78	54-78
パフォーマンス・ステータス[a]			
0	1	12	13
1	2	1	3
血清PSAレベル（ng/ml）			
中央値	92.5	34.8	43.1
範囲	25.1-2269.5	6.3-339.6	6.3-2269.5
Gleason スコア（n）			
7	0	6	6
8	1	3	4
9	2	4	6
転移部位（n）			
骨のみ	2	7	9
骨および結節／臓器	1	3	4
結節／臓器	0	3	3
エストラムスチンリン酸塩の事前使用（n）			
あり	2	7	9
なし	1	6	7

[a]ECOGスコアによるパフォーマンス・ステータス

【表６－１】

表6：治療中の免疫応答

患者番号	ペプチド	ペプチドに対する細胞性応答[a]		抗ペプチドIgG[b]		DTH誘導	治療[c]	最良の臨床応答	PR期間(M)	追跡(M)	予後
		Pre	6th	Pre	6th						
1	SART1 690	449	35	-	-	-	併用	PR[d]	6	17	生存
	SART3 109	0	681.8	+	+	+(3)					
	PAP213	0	392.3*	+	+	-					
	PSA248	19.5	100	+	+	-					
2	SART2 93	22.8	376.8	+	+	-	併用	PR	3	10	死亡
	SART3 109	14.3	25	+	+	-					
	PAP213	0	46.8	+	++	-					
	PSA248	28.3	505.8	+	+	-					
3	SART3 109	26	27.3	-	++	-	併用	-	-	16	生存
	SART3 315	47.8	39.3	-	+	-					
	kk208	34.8	0	-	-	-					
	PSA152	34.5	34.8	-	-	-					
4	SART3 315	4	12.8	+	+	-	併用	PR	10	16	生存
	PAP213	30.8	850*	+	+	-					
	PSA248	12.8	303.5	+	++	-					
	PSM624	100	167	+	+	-					
5	SART3 109	12.3	534**	+	+	+(5)	併用	-	-	9	死亡

【表６－２】

表6（続き）

	kk208	5.8	676	+	-	+(5)	-	ワクチン	PR	3	7	死亡
	kk488	29.8	99	+	-	+(5)	-					
	PSA248	14.3	149.8	+	+	+(5)	-					
6	SART3 109	5.3	170.8	+	+	-	-					
	PAP213	5.8	0	+	+	-	-					
	PSA152	39.5	0	+	-	-	-					
	PSA248	6.5	0	+	+	-	-					
7	SART2 93	125	162.5	-	-	-	-	併用	PR	5	12	死亡
	SART3 109	5.5	750**	+	+	-	-					
	PAP213	0	186.8**	-	+	+(6)	-					
	PSA248	18.5	9.3	+	+	-	-					
8	SART1 690	0	0	+	+	-	-	併用	-	-	15	生存
	SART3 109	0	610.8*	+	+	-	-					
	SART3 315	0	154**	-	-	-	-					
	PSA248	0	0	+	++	-	-					
9	SART1 690	250	81.8	-	+	-	-	併用	-	-	14	生存
	PAP213	375	36.5	-	-	-	-					
	PSA152	250	18.8	-	-	-	-					
	PSA248	375	21.3	-	++	-	-					
10	SART2 93	57.3	228.5**	+	-	-	-	併用	PR	13	14	生存

【表６－３】

表6（続き）

11	Idx488	36.5	26.8	+	-	-						
	PSA152	49.3	0	+	+	-						
	PSA248	17	0	+	+	-						
	SART3 109	625	250	+	+	-	併用	-	11	死亡		
	Idx486	375	58.5	-	+	-						
	PAP213	250	153.5	-	-	-						
	PSA248	250	38.8	-	++	-						
12	SART3 109	35.8	496	+	-	-	ワクチン	-	10	死亡		
	Idx488	31.8	26.5	+	-	-						
	PAP213	28.8	622.3*	+	+	-						
	PSA248	18	243.5	+	+	-						
13	SART3 315	112.3	26.5	-	-	+(2)	併用	-	5	死亡		
	PAP213	80	9.5	-	-	+(2)						
	PSA152	168.8	15.5	-	-	+(2)						
	PSA248	32.8	0	+	+	+(2)						
14	SART3 109	30.3	22.3	+	+	-	併用	PR	9	生存		
	SART3 315	44.8	255	-	-	-						
	Idx208	26.3	58.8	-	-	-						
	PAP213	14.3	324.3**	-	-	-						
15	SART2 161	0	n.a.	+	n.a.	-	ワクチン	-	5	死亡		

【表６－４】

表6（続き）

	SART3 109	25.3	n.a.	+	n.a.	-				
	SART3 315	15	n.a.	+	n.a.	-				
	PSA248	0	n.a.	+	n.a.	-				
16	SART3 109	2.8	0	+	n.a.	-	併用	-	8	生存
	lck488	30.5	19.8	-	n.a.	-				
	PAP213	33.8	32	+	n.a.	-				
	PSA248	23.8	9.8	+	n.a.	-				

[a]ペプチドに対するCTL前駆体の応答を四重反復検定にて行った。
ワクチン投与前および6回目投与後のPBMCの特異的IFN－γ産生（pg/ml）の平均は、HIV由来の無関係なペプチドに対する応答を差し引いて計算し、スチューデントt検定により比較した。
IFN－γ産生の増加 *：P≦0．05、**：P≦0．10
[b]－：なし、＋：あり（タイター低）、＋＋：あり（タイター高）
[c]併用：ワクチン＋エストラムスチンリン酸塩、ワクチン：ワクチン単独
[d]PR：部分応答
[e]入手不可

【表７】

表7：有害事象

	ワクチン単独				ワクチン＋エストラムスチンリン酸塩				
毒性[a]	G1	G2	G3	G4	G1	G2	G3	G4	合計
皮膚	3				12	1			16
食欲不振	1				6				7
骨痛					1	5			6
血尿		1				1			2
浮腫					2				2
脳梗塞						1			1
貧血（Hb<8mg/dl）		1							1
疲労	1								1

[a]毒性は、米国癌研究所の一般的毒性スケール（2版）に基づく。数人の患者が2以上の毒性反応を示した。

【表８】

表8

エストラムスチンの用量	症例	応答（陽性／全体）		投与期間	臨床応答
		細胞性免疫	液性免疫		
560 mg / 日	5	0 / 3	1 / 2	1M×3、6M×2	5PD
280 mg / 日	32	23 / 31	27 / 32	9M（ 中央値 ）	10PR、10SD、12PD
140 mg / 日	4	3 / 4	4 / 4	2M、3M 、8M 、9M	1SD、3PD

【表９】

表9

症例番号	ワクチン単独による臨床応答	併用による臨床応答	全体的生存率
1	PD	PR	29M
2	PD	PR	25M
3	PD	PR	42M+
4	PD	PR	26M
5	PD	PR	29M+
6	PD	PR	14M
7	PD	PR	15M+
8	PD	SD	34M+
9	PD	SD	32M+
10	PD	SD	15M
11	PD	SD	25M+
12	PD	SD	23M+
13	PD	PD	24M
14	PD	PD	12M

【図面の簡単な説明】

【００５５】

【図１】図１Ａから図１Ｊは、各症例で投与したペプチドに特異的なＩＮＦ－γ産生およびＩｇＧレベルの経時変化を示すグラフである。症例２、５、７、８、１０および１２ではペプチド特異的ＣＴＬ前駆体の増加が観察され、症例３、４、５、７、８、１０、１１、１２および１３ではペプチド特異的ＩｇＧの誘導が観察された。

【図２】図２Ａから図２Ｊは、処置が誘導した免疫抑制のモニタリング結果を示すグラフである。症例２および症例３は重度の免疫抑制を示し、その免疫抑制はエストラムスチンリン酸塩全用量投与（５６０ｍｇ／日）を中止することによって回復した。ペプチドおよび低用量のエストラムスチンリン酸塩（２８０ｍｇ／日）を投与した８症例では免疫抑制はなかった。

【図３】図３Ａから図３Ｋは、患者１１名における本研究中のＰＳＡレベルの経時変化を示すグラフである。患者１１名中１０名（９４％）の患者は、併用療法の間に血清ＰＳＡレベルがベースラインから低下した。

【図４】図４は、症例１２のＣＴ画像を示す。Ａ：併用療法の開始時点でＣＴスキャンに大動脈周囲リンパ節転移（矢印）が認められた。Ｂ：併用療法８ヵ月後の再度のＣＴスキャンでは、リンパ節転移のサイズが４４％減少した（矢印）。

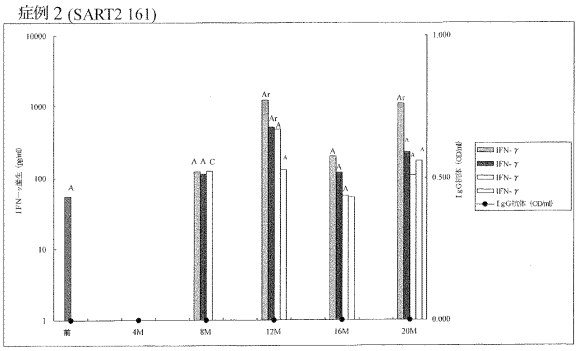
【図５】図５Ａから図５Ｇは、ワクチン投与前およびワクチン投与後のＰＢＭＣにおけるペプチド特異的ＣＴＬ前駆体の代表的結果を示すグラフである。ペプチド特異的ＣＴＬ前駆体の増加が、ペプチドワクチン投与単独および併用療法で観察された。　高度の応答（Ａｒ）：ｐ≦０．０１および５００≦純産生量（対応ペプチドに応答したＩＮＦ－γレベ

ル－ＨＩＶペプチドに応答したＩＮＦ－γレベル）；　Ａ：中程度の応答（Ａ）：ｐ≦０．０５および５０≦純産生量；　Ｂ：ｐ≦０．０５および２５≦純産生量＜５０；　Ｃ：０．０５＜ｐ≦０．１および５０≦純産生量。

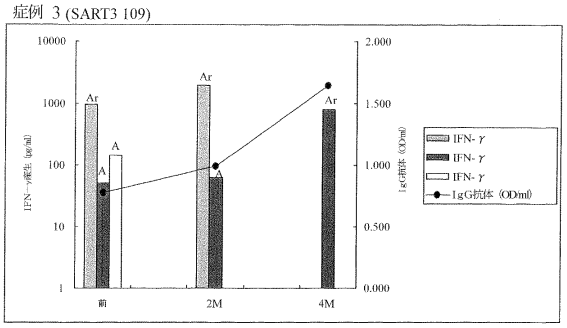
【図６】図６Ａから図６Ｊは、投与ペプチド特異的ＩｇＧレベルの段階的変化を示すグラフである。垂直の線はＯＤを示し、水平の線は血清の希釈を示す。ペプチド特異的ＩｇＧの増加が、ペプチドワクチン投与単独および併用療法で観察された。Ｓｃ：皮下注射。

【図７】図７Ａから図７Ｅは、ワクチン投与の間の％ＱＯＬスケール評価を示すグラフである。ｎ．ｓ．：非有意。全因子についてＱＯＬは処置の間に悪化しなかった。

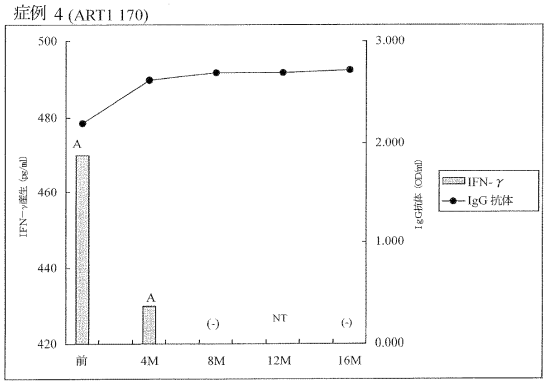
【図１Ａ】



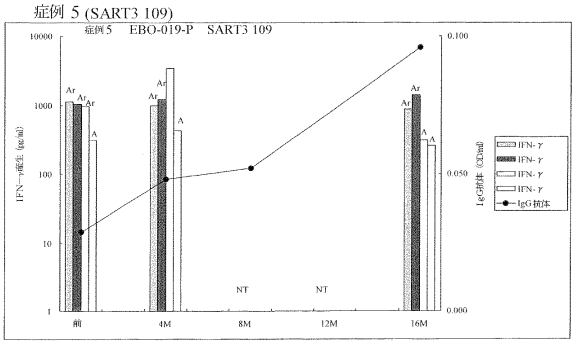
【図１Ｂ】



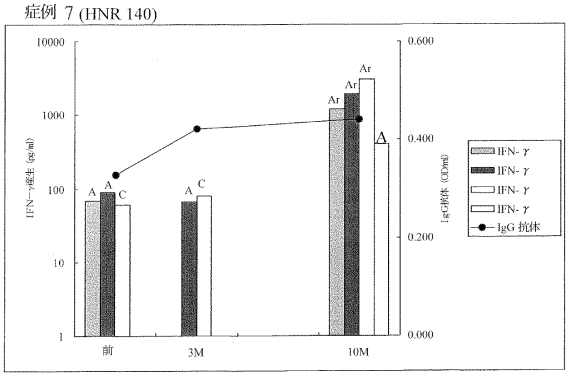
【図１Ｃ】



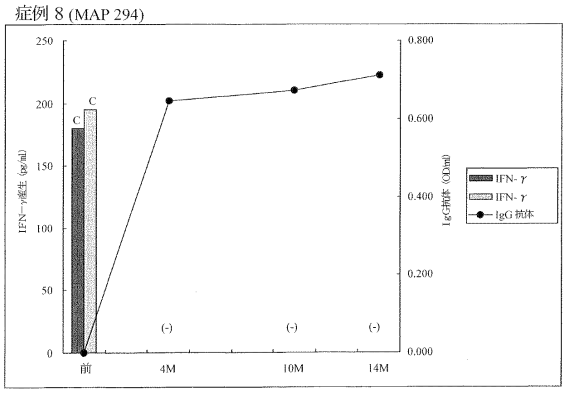
【図１Ｄ】



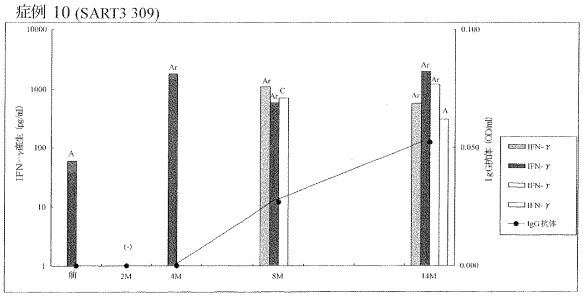
【図１Ｅ】



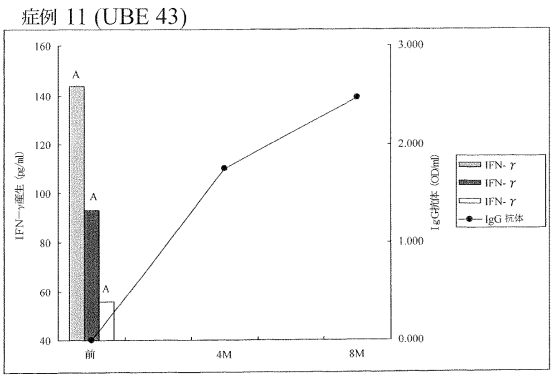
【図１Ｆ】



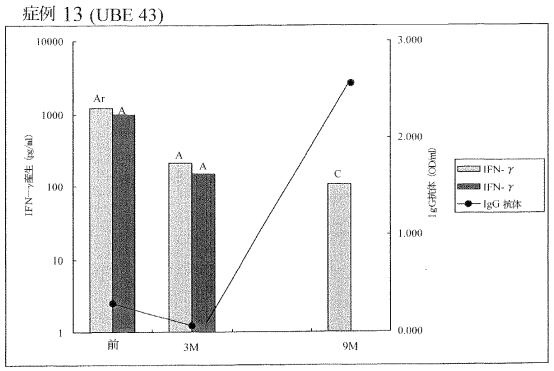
【図１Ｇ】



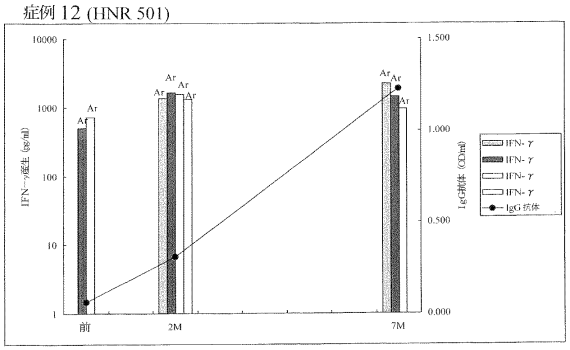
【図１Ｈ】



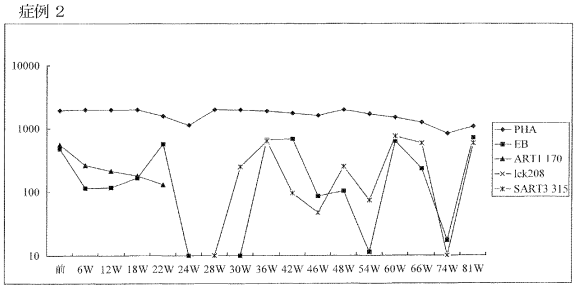
【図１Ｊ】



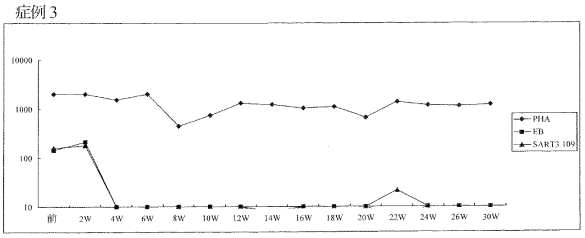
【図１Ｉ】



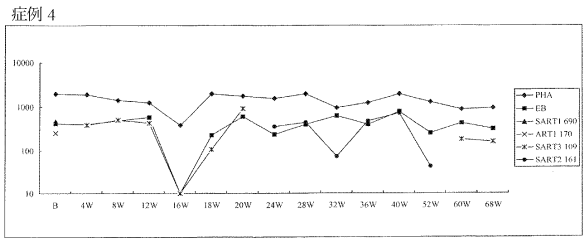
【図２Ａ】



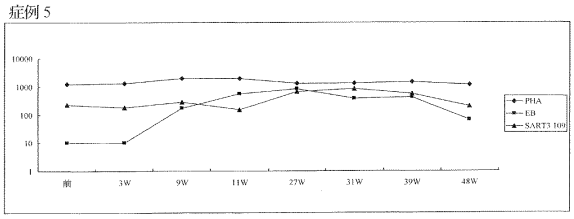
【図２Ｂ】



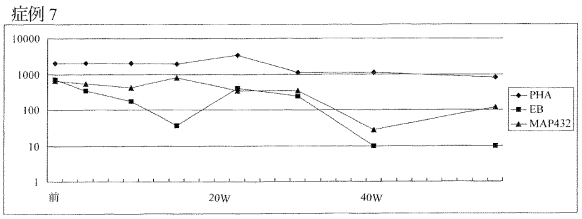
【図２Ｃ】



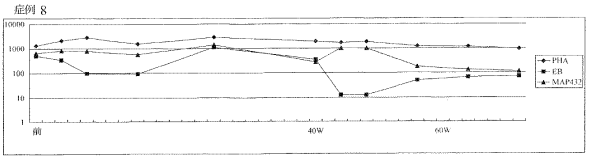
【図２Ｄ】



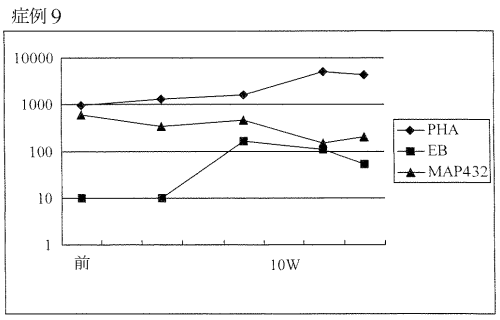
【図２Ｅ】



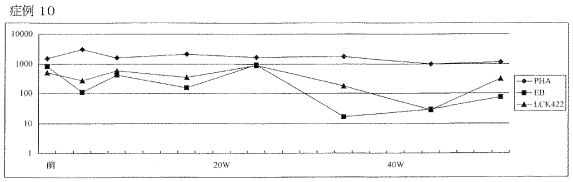
【図２Ｆ】



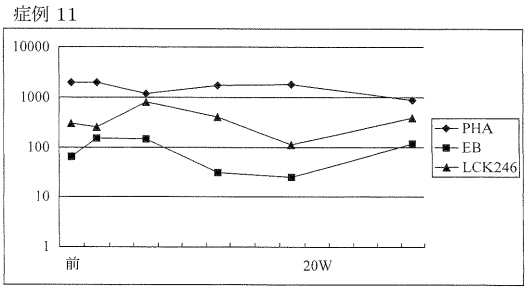
【図２Ｇ】



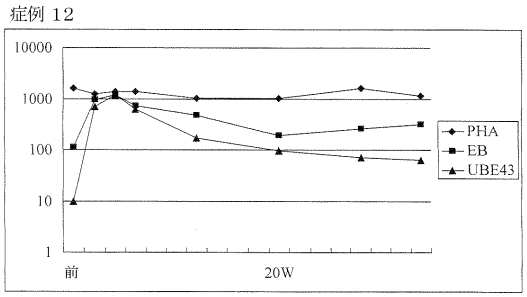
【図２Ｈ】



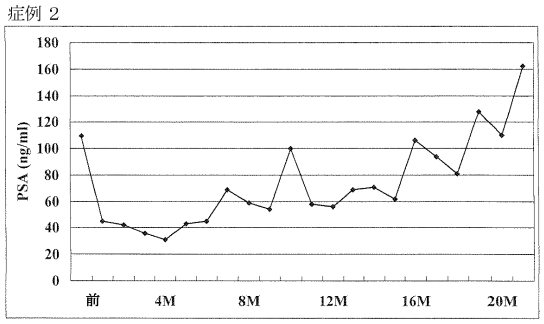
【図２Ｉ】



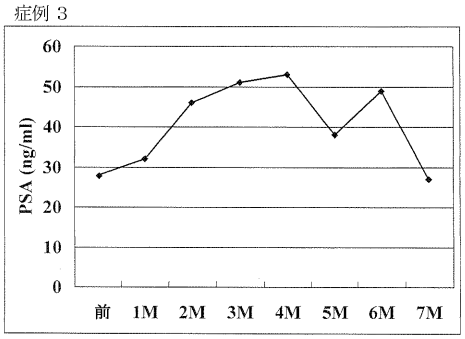
【図２Ｊ】



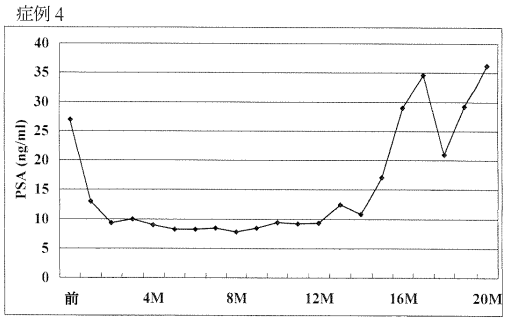
【図３Ａ】



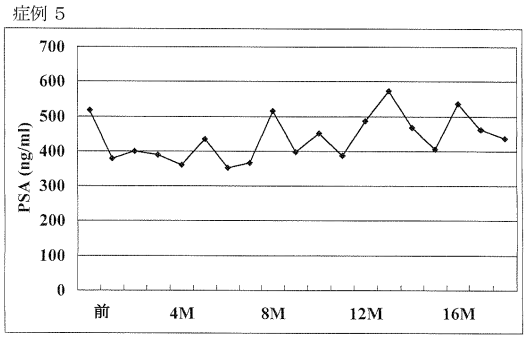
【図３Ｂ】



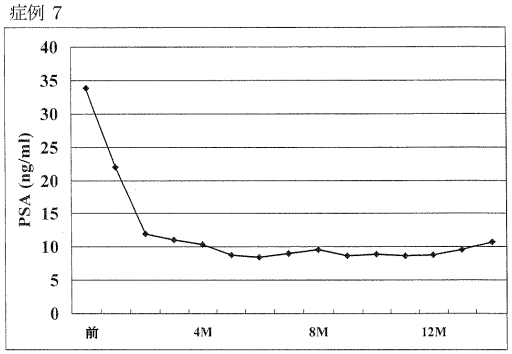
【図３Ｃ】



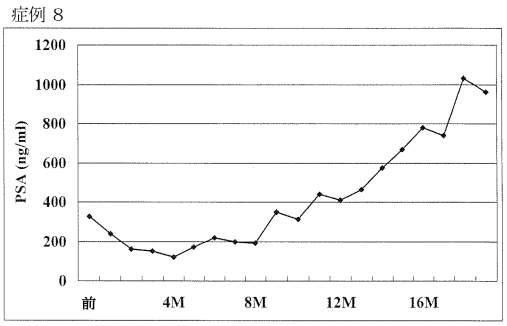
【図３Ｄ】



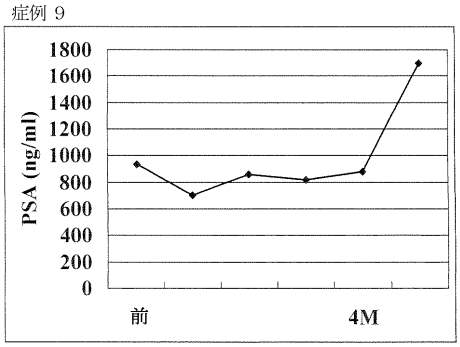
【図３Ｅ】



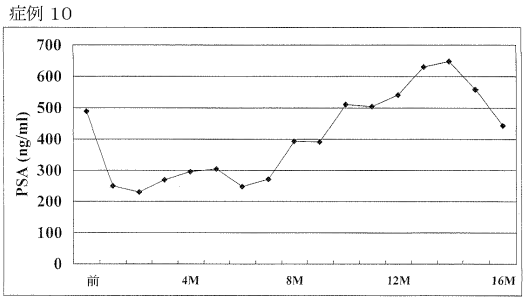
【図３Ｆ】



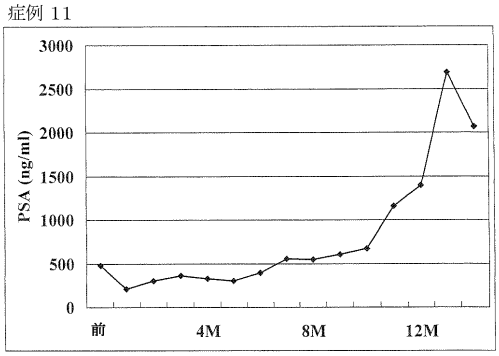
【図３Ｇ】



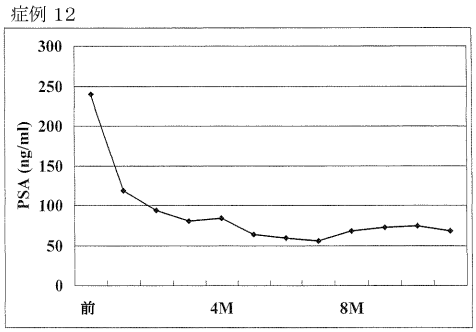
【図３Ｈ】



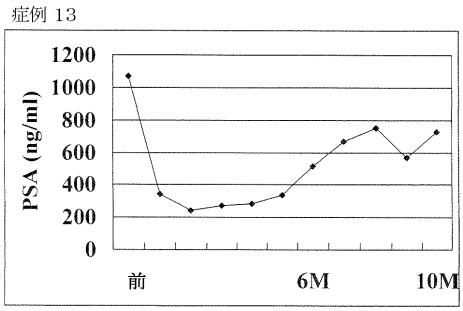
【図３Ｉ】



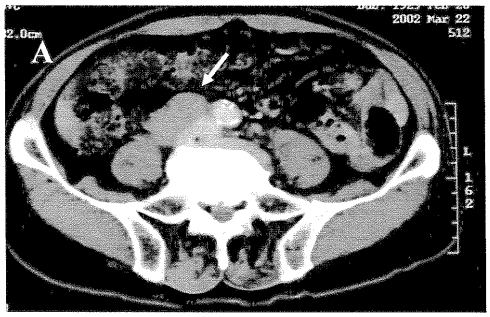
【図３Ｊ】



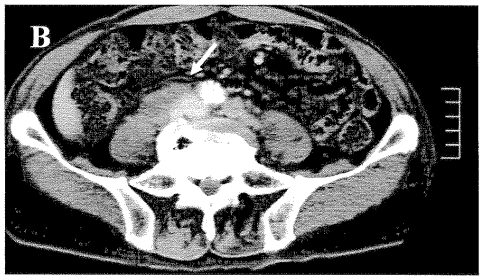
【図３Ｋ】



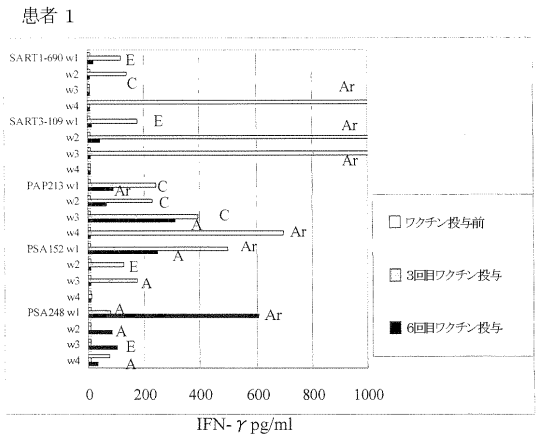
【図４Ａ】



【図４Ｂ】

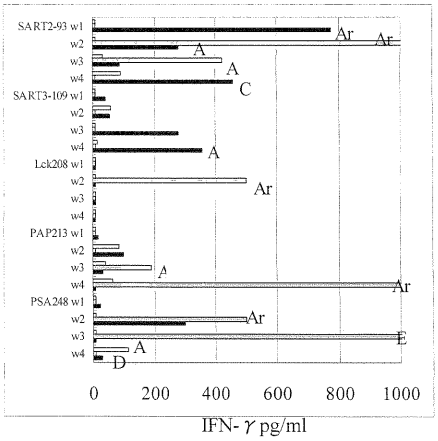


【図５Ａ】



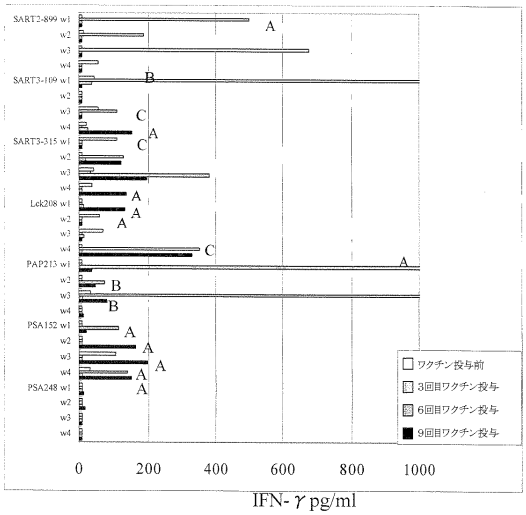
【図５Ｂ】

患者２



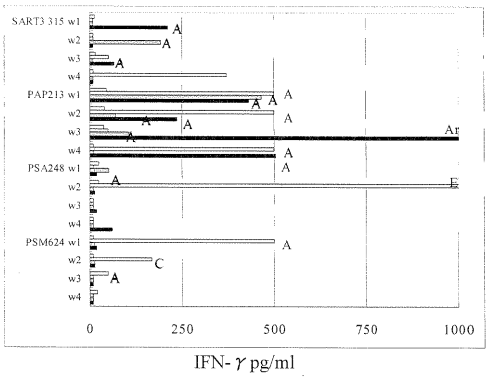
【図５Ｃ】

患者３



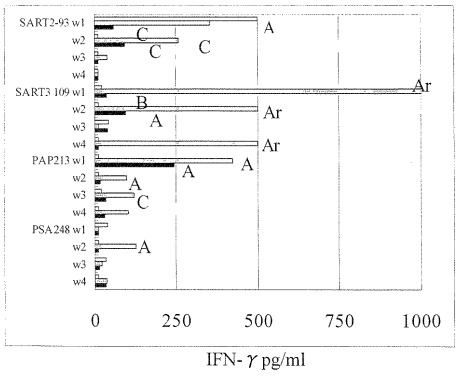
【図５Ｄ】

患者４

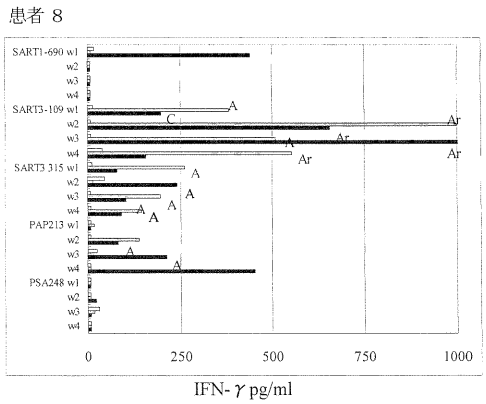


【図５Ｅ】

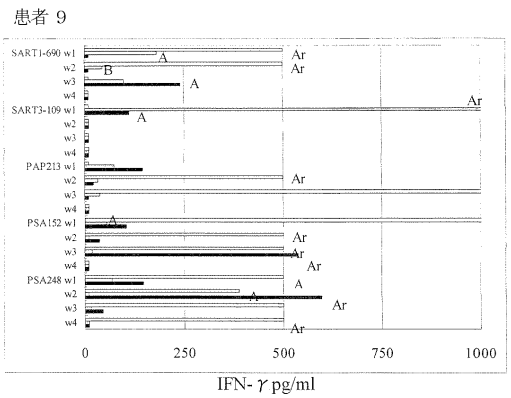
患者７



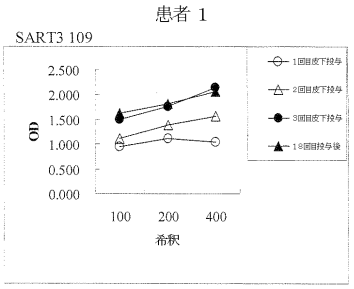
【図５Ｆ】



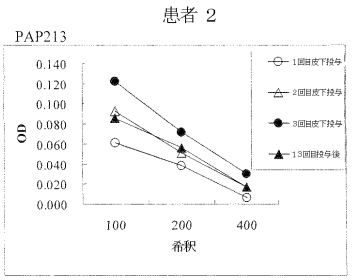
【図５Ｇ】



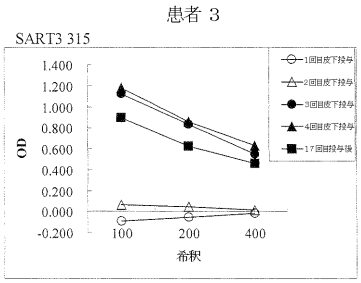
【図６Ａ】



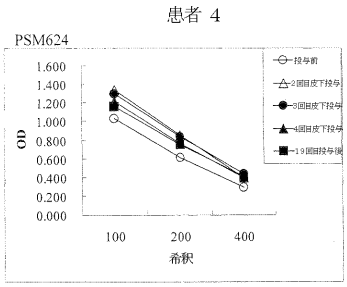
【図６Ｂ】



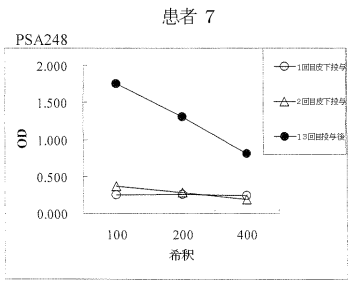
【図６Ｃ】



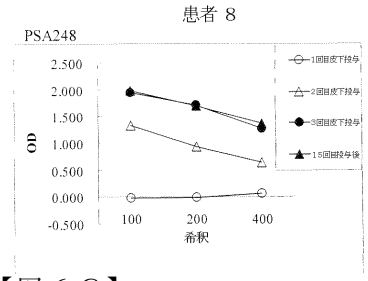
【図６Ｄ】



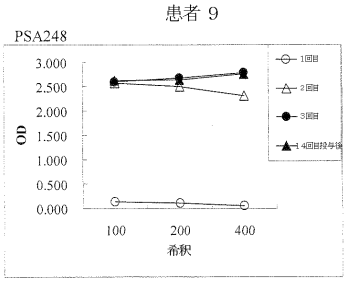
【図６Ｅ】



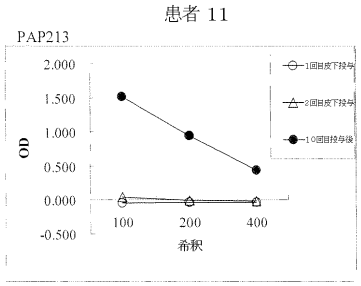
【図６Ｆ】



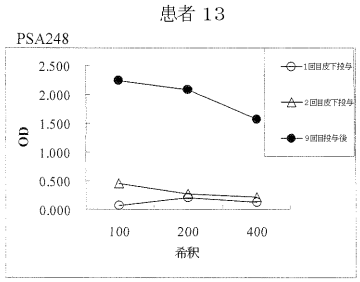
【図６Ｇ】



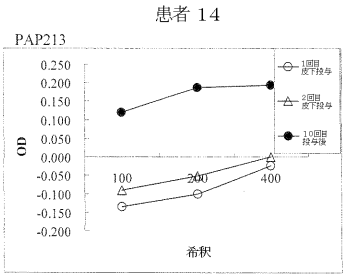
【図６Ｈ】



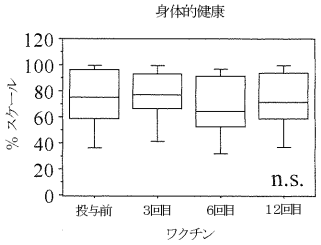
【図６Ｉ】



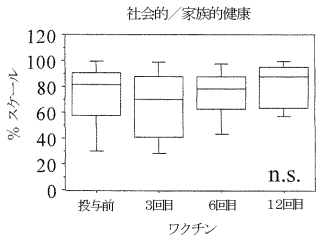
【図６Ｊ】



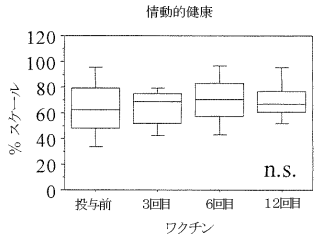
【図７Ａ】



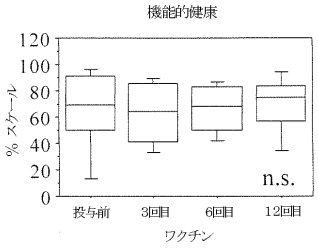
【図７Ｂ】



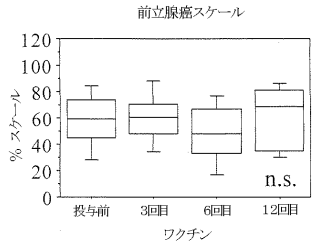
【図７Ｃ】



【図７Ｄ】


機能的健康
120
100
80
60
40
20
0
% スケール
n.s.
投与前
3回目
6回目
12回目
ワクチン

【図７Ｅ】


前立腺癌スケール
120
100
80
60
40
20
0
% スケール
n.s.
投与前
3回目
6回目
12回目
ワクチン

フロントページの続き

(51)Int.Cl. FI
Ａ６１Ｐ 43/00 (2006.01) Ａ６１Ｐ 43/00 １２１

(72)発明者 伊東 恭悟
佐賀県三養基郡基山町けやき台２－２５－９
(72)発明者 野口 正典
福岡県久留米市津福本町５３－４

審査官 岩下 直人

(56)参考文献 特開平１０－５１１３４７（ＪＰ，Ａ）
特開２００３－１０４９０６（ＪＰ，Ａ）
特開２００２－３０８７９９（ＪＰ，Ａ）
特開２００３－５０３３６１（ＪＰ，Ａ）
国際公開第０２／０３９９９６（WO，Ａ１）

(58)調査した分野(Int.Cl.，ＤＢ名)
Ａ６１Ｋ ３８／００
Ａ６１Ｋ ３１／５６５
Ａ６１Ｋ ３９／００
Ａ６１Ｐ １３／０８
Ａ６１Ｐ ３５／００
Ａ６１Ｐ ４３／００