

HLA 班報告

班長 生越喬二

はじめに

癌患者個人個人に合った治療法を予測する方法論として HLA 抗原を測定し、免疫療法剤、PSK の responder の抽出を目的とした HLA 班 1 次研究は 1993 年 9 月からスタートし、1996 年 6 月まで行われた。

現在までの検討で、一般臨床の場で行われている化学療法、免疫化学療法で恩恵を受ける患者群が存在することが示唆されている。さらに、HLA 抗原をその発現頻度から数量化Ⅲ類を用いて分類すると、日本人は 4 つのタイプ (type 1, 2, 3, 4) に分類されることが明らかとなった¹⁾。

1987 年 2 月から 1990 年 12 月までに行われた「術前糖蛋白を指標とした胃癌免疫化学療法研究会 (PSGP 研究会)」で HLA 抗原を測定された胃癌症例の検討では、type1 と type4 の患者では PSK 併用化学療法は化学療法にくらべて予後が良好であることが示された。また、シアル酸などの急性相反応物質が陽性を示す患者では PSK 併用化学療法の有用性が示されている。

欧米諸国の HLA 抗原の発現頻度 (11th HLA ワークショップ) の検討から、欧米諸国ではタイプ分類が不可能で、日本人にくらべて種々雑多な HLA 遺伝子をもつ民族であると理解される。このことは、日本人の癌治療の効果を検討する場合

には、術前の糖蛋白、HLA のタイプ毎に治療法の有用性を検討する意義があり、HLA 班 2 次研究ではこのことを confirm するために企画された。

さらに、東海大学第 2 外科の胃癌切除術症例の検討では、type1 の患者は PSK 併用化学療法が化学療法にくらべて (PSK 併用化学療法+胃切除術>>化学療法+胃切除術>>胃切除術)、type2 の患者は術後補助療法の有用性はみられなかったが、全病死の検討では胃切除術に比し術後補助療法の有用性が認められた。type3 の患者は化学療法が PSK 併用化学療法にくらべて (化学療法+胃切除術>PSK 併用化学療法+胃切除術>>胃切除術) 予後が良好であったが、type4 の患者では胃切除術に比し術後補助療法の有用性はみられなかった。

すなわち、HLA type 毎に、免疫化学療法で恩恵を受ける患者、化学療法で恩恵を受ける患者、術後補助療法で恩恵を受ける患者、胃切除術のみでよい患者が予測できる可能性が考えられた。

癌治療を癌患者に与える時代から癌患者に癌治療を合わせる時代になってきたとの認識に立ち、本研究では QOL 班で作成された QOL-20 質問票を使用し、本研究が癌患者の QOL 向上につながるかどうかとも検討する。

1 次研究では、MMC+PSK+5-Fu, MMC+5-Fu, 胃切除術単独の比較対照試験を行ったが、2 次研究では、化学療法の薬剤を変えても、このような癌治療に恩恵を受けられる患者群が存在するかどうか、制癌剤感受性試験 (Histoculture

¹⁾ Hayashi F et al. : Ann. Cancer Res. Ther. 3(2) : 117-120, 1994.

Drug Response Assay : HDRA) との相関, 化学療法
の副作用発現に関する問題もあわせ検討する.

研究組織

1. 班 長
生 越 喬 二 東海大学第 2 外科
2. 臨床系責任者
曾 和 融 生 大阪市立大学第 1 外科
3. 評価委員ワーキンググループ責任者
 - (1) シアル酸など
土 屋 敦 雄 福島県立医科大学第 2 外科
 - (2) HLA, S-HLA
長 町 幸 雄 群馬大学第 1 外科
 - (3) 制癌剤感受性
久保田哲朗 慶應義塾大学一般消化器外科
 - (4) QOL
小 柳 恭 久 東京医科大学第 3 外科
 - (5) 副作用, TS など
深 尾 立 筑波大学外科
 - (6) 薬剤コンプラ
8. プログラム委員 (全員)

- 田 中 紀 章 岡山大学第 1 外科
- (7) 細胞性免疫能
岡 正 朗 山口大学第 2 外科
4. Extramural Reviewer
水 谷 陽 一 京都大学泌尿器科
(HLA, S-HLA)
江 浦 正 郎 熊本大学耳鼻咽喉科
坂 本 純 一 県立愛知病院外科
福 島 松 郎 弘前大学第 1 外科
(細胞性免疫能)
次 田 正 東京女子医科大学消化器病セン
ター
太田恵一朗 癌研究会附属病院外科
():ワーキンググループ
5. 生物統計家
林 知己夫 統計数理研究所
杉 田 稔 東邦大学衛生学
6. アドバイザー
重 久 剛 東京家政学院大学
7. 基礎部会

施設 No.および施設名 (順不同)	施設代表者	評価委員	実務担当
101. 弘前大学第 1 外科	鈴木宗平	福島松郎	長谷川善枝
102. 弘前大学第 2 外科	今 充	三上泰徳	三上泰徳
103. 福島県立医科大学第 2 外科	阿部力哉	土屋敦雄	土屋敦雄
106. 宮城県立がんセンター外科	吉田弘一		富永 剛
107. 群馬大学第 1 外科	長町幸雄		志村龍男
108. 筑波大学外科	深尾立	小田竜也	小田竜也
109. 千葉大学第 2 外科	磯野可一	落合武徳	鈴木孝雄
		鈴木孝雄	
110. 東海大学第 2 外科	三富利夫	宮治正雄	宮治正雄
112. 東京大学第 1 外科	武藤徹一郎		武藤徹一郎
115. 東京医科大学第 3 外科	小柳泰久		鈴木和信
116. 東京女子医科大学第 2 外科	亀岡信悟		三橋 牧
117. 東京女子医科大学第 2 病院外科	梶原哲郎		勝部隆男
118. 東邦大学附属大橋病院第 3 外科	炭山嘉伸		長尾二郎
119. 浜松医科大学第 2 外科	馬場正三	今野弘之	今野弘之
120. 岐阜大学第 2 外科	佐治重豊	国枝克行	国枝克行

施設 No.および施設名 (順不同)	施設代表者	評価委員	実務担当
121. 藤田保健衛生大学第2教育病院外科	松本純夫	鈴木啓一郎	鈴木啓一郎
122. 滋賀医科大学第1外科	小玉正智		寺田信國
124. 大阪市立大学第1外科	曾和融生	加藤保之	加藤保之
126. 近畿大学第1外科	安富正幸	奥野清隆	奥野清隆
128. 熊本大学第2外科	小川道雄	江上寛	島田信也
130. 自治医科大学大宮医療センター外科	宮田道夫	清崎浩一	清崎浩一
131. 島根医科大学第1外科	田村勝洋	仁尾義則	仁尾義則
201. 愛知医科大学第1外科	成瀬隆吉	小島卓	小島卓
202. 旭川医科大学第2外科		棟方隆	棟方隆
203. 岡山大学第1外科	田中紀章		斎藤信也
204. 関西医科大学第2外科	日置紘士郎		中根恭司
205. 岐阜大学第1外科	広瀬一	林勝知	林勝知
206. 京都警察病院外科	大垣和久		大垣和久
207. 京都大学第1外科	今村正之		小野寺久
208. 京都大学第2外科	山岡義生		坂井義治
209. 京都府立医科大学第2外科	岡隆宏	山岸久一	山岸久一
210. 慶應義塾大学外科	北島政樹	久保田哲朗	久保田哲朗
211. 県立愛知病院外科	安江満悟	小島宏	小島宏
212. 山口大学第2外科		岡正朗	岡正朗
213. 自治医科大学消化器一般外科	金沢暁太郎		渋沢公行
214. 鹿児島大学第1外科	愛甲孝		小林伸久
215. 順天堂浦安病院外科	八木義弘	木所昭夫	帆北修一
216. 聖マリアンナ医科大学第1外科	山口晋	竹村和郎	木所昭夫
217. 大阪医科大学一般消化器外科	岡島邦雄	豊田昌夫	竹村和郎
218. 大阪大学腫瘍外科	高井新一郎	丹治芳郎	豊田昌夫
219. 大阪府立成人病センター外科	岩永剛	古河洋	丹治芳郎
220. 朝日大学歯学部附属村上記念病院外科	大澤二郎	中西正樹	古河洋
221. 長崎大学第1外科	綾部公懿		中西正樹
222. 帝京大学市原病院外科	和田信昭		草野裕幸
223. 都立駒込病院外科	北村正次		仲秀司
224. 東京女子医科大学消化器病センター外科	高崎健		岩崎喜毅
225. 奈良県立医科大学第1外科	中野博重		林和彦
226. 日本医科大学第1外科	恩田昌彦	徳永昭	山田行重
227. 名古屋市立大学第2外科	小林俊三	桑原義之	徳永昭
228. 名古屋大学第2外科	高木弘	伊藤勝基	桑原義之
229. 関西医科大学男山病院外科	畑埜武彦		伊藤勝基
			是枝敬

9. 評価委員ワーキンググループ (◎: 責任者)

〈 〉: Extramural Reviewer

- (1) シアル酸など
◎土屋敦雄, 国枝克行, 宮治正雄, 今野弘之
- (2) HLA, S-HLA
◎長町幸雄, 落合武徳, 仁尾義則, 江上寛, 奥野清隆, 山岸久一, 豊田昌夫 〈水谷陽一〉
- (3) 制癌剤感受性
◎久保田哲朗, 古河 洋, 鈴木啓一郎, 北村正次, 木所昭夫, 清崎浩一, 三上泰徳
- (4) QOL
◎小柳恭久, 鈴木孝雄, 小島 宏, 棟方 隆
- (5) 副作用, TS など
◎深尾 立, 小田竜也, 丹治芳郎, 林 勝知
- (6) 薬剤コンプラ
◎田中紀章, 加藤保之, 桑原義之, 竹村和郎, 中西正樹
- (7) 細胞性免疫能
◎岡 正朗, 伊藤勝基, 中西正樹, 徳永昭, 小島 卓 〈福島松郎〉

研究目的

胃癌および結腸癌, 直腸癌の切除症例を対象として, PSK+UFT, UFT, CDDP+PSK+UFT, CDDP+UFT 治療を行い, この治療法で恩恵を受ける患者群の抽出を目的とする。すなわち, 以下の仮説の立証を目的とする。

1. HLA type 1 の患者では PSK 併用化学療法で遠隔成績の向上が認められる (PSK 併用化学療法+胃切除術>>化学療法+胃切除術>>胃切除術)。
2. HLA type 2 の患者では PSK 併用, および化学療法により胃切除術単独の他病死が減少する。
3. HLA type 3 の患者では化学療法で遠隔成績の向上が認められる (化学療法+胃切除術>PSK 併用化学療法+胃切除術>>胃切除術)。
4. HLA type 4 の患者では胃切除術に比し PSK 併用化学療法, 化学療法の効果がみられない。
5. 術前シアル酸濃度が陽性例 (85.3mg/dl をこ

える) の患者では PSK 併用化学療法で遠隔成績の向上が認められる。

6. 術後の細胞性免疫能 (CD4-T 細胞, CD8-T 細胞, NK 細胞等) が正常である患者の遠隔成績は良好である。
7. 治療法により恩恵を受けている患者群では QOL が良好であるが, 副作用が発現する患者は QOL が不良である。
8. Thymidylate synthase の m-RNA レベルが高値を示す患者では副作用が多い。
9. 化学療法剤の使用による消化器症状が制吐剤で抑制された患者では QOL が良好である。
10. 癌組織の制癌剤感受性試験で感受性が認められる患者の遠隔成績は良好である。
11. 制癌剤の種類が異なっても上記の項目が立証される。
12. 胃癌, 大腸癌でも上記の項目が立証される。

検査項目

1. 検査項目

- (1) ◎ HLA antigen (HLA class I & II, 可溶性 HLA) class I & II : microcytotoxicity assay, class II : DNA assay, serum soluble class I : Elisa 法 (ただし, 輸血直後はさける)
- (2) ◎ 細胞性免疫能 (CD3×抗 HLA-DR, CD4×CD45RA, CD8×CD11b, CD57×CD16)
- (3) ◎ IAP, シアル酸, CEA
- (4) ☆ Thymidylate synthase m-RNA リンパ球および組織: RT-PCR 法
- (5) ☆ 薬剤 compliance (尿中 Tegafur 濃度): RF-HLPL 法
- (6) ☆ 制癌剤感受性試験 (5-FU, CDDP, MMC): Hoffman 法
- (7) ☆ QOL-20, 癌告知などのアンケート
- (8) ☆ 二次癌の発生頻度
- (9) ◎ 臨床所見: 副作用など

◎: 必ず行う, ☆: オプション

2. 検査時期

	術前	術後2~3W	術後1カ月	術後6カ月	術後12カ月	術後24カ月	術後36カ月	再発または死亡前
HLA antigen	◎							
細胞性免疫能	◎	◎	☆	☆	◎	☆	☆	◎
IAP, シアル酸, CEA	◎	◎	☆	☆	◎	☆	☆	◎
QOL-20	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆
尿中 TG 濃度	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆	☆
Thymidylate synthase	☆							☆
制癌剤感受性試験	☆							
臨床所見, 副作用など	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎	◎

◎:必ず行う, ☆:オプション

注:細胞性免疫能, IAP, シアル酸, CEA 検査が術後2~3週目に施行できなかった症例では術後1カ月は◎とする。

研究成果/1996年度

1. 腫瘍特異的癌ワクチン免疫療法開発を目指した癌拒絶抗原ペプチドの発現とHLAの関連性

筆者らは腫瘍特異的癌ワクチン免疫療法開発において、重要なヒト癌退縮抗原として着目されている抗原をコードする MAGE-1 遺伝子の RT-PCR (Reverse Transcriptase-Polymerase Chain Reaction) を用いた、より簡便かつ迅速な messenger RNA レベルでの発現同定法を確立した。

当院において施術した胃癌患者および大腸癌、黒色腫患者からの摘出組織における MAGE-1 遺伝子の発現同定を行ったところ、検体総数79例中14例で MAGE-1 遺伝子の発現が確認された。しかしながら、現在のところこれら MAGE-1 遺伝子の発現と HLA との関連性は認められていない。

そこで筆者らは先の MAGE-1 遺伝子の発現とは別に、胃癌施術患者のリンパ球を用いて、日本人に多く見られる HLA Class-I の A-2 および A-24 のタンパク質レベルでのタイピングを行った。これらの患者より摘出された組織を *in vitro* で培養、確立し、MAGE-1 抗原とは別の腫瘍特異的癌ワクチンとなりうる癌ペプチドの検索と、腫瘍特異的細胞障害性リンパ球の分化誘導を行うべく、はじめに摘出組織の *in vitro* 培養法の確立を検討した。

現在のところ、AIM-V10% FCS と 5% FCS の DMEM と F-12 とのカクテル培地 (Kay HS,

Elizabeth AH, Annette LR, David FL, Barton FH: Human Immunology 13: 161-176, 1985.) の2種類の培地を組み合わせることにより、胃癌細胞の選択的な生着の確立を上げることができた。

しかしながら、癌ペプチド検索や細胞障害性リンパ球の誘導に足る癌細胞の長期培養が可能までには至っておらず、摘出癌組織からの効率的な cell line 化が今後の課題とされる。

今後の課題としては、前述の癌細胞の初期培養からの効率的な cell line 化の確立に加え、HLA-A2, -A24 により提示される癌ペプチドの検索を検討中である。

(垣生園子, 東海大学医学部生体防御機構系免疫学部門)

2. 癌細胞(胃癌, 大腸癌)組織における HLA 抗原発現

現在、胃癌症例における HLA 抗原発現の有無につき検討中である。使用している抗体は抗 HLA クラス I (A, B, C) 抗体として W6/32 を、抗 HLA-DR 抗体として HU-20 (monomorphic) を使用している。少数例であるが、胃癌細胞では HLA クラス I 抗原はほぼ100%染色陽性であるが、HLA-DR 抗原に関しては約70%が染色陽性であった。

今後、症例を増やし、HLA 抗原発現の臨床的意義について検討する予定である。

(武内利直, 千葉がんセンター臨床病理部)

3. HLA 班症例集積 (平成 9 年 3 月 31 日現在)

表 1 1 次研究登録症例数一覧表

No.	施設名	胃	大腸
01	弘前大学第 1 外科	1 (内脱落例 1)	---
02	弘前大学第 2 外科	3 (内脱落例 2)	6 (内脱落例 1)
03	福島県立医科大学第 2 外科	10	3 (内脱落例 1)
04	福島県立医科大学第 1 外科	---	---
05	東北大学第 1 外科	---	---
06	宮城県立がんセンター	---	1
07	群馬大学第 1 外科	28 (内脱落例 3)	25 (内脱落例 4)
08	筑波大学外科	3 (内脱落例 2)	2 (内脱落例 1)
09	千葉大学第 2 外科	13 (内脱落例 1)	56 (内脱落例 53)
10	東海大学第 2 外科	341 (内脱落例 182)	36 (内脱落例 28)
11	日本大学第 1 外科	---	---
12	東京大学第 1 外科	---	1
13	順天堂大学第 1 外科	---	---
14	東京医科歯科大学第 2 外科	---	---
15	東京医科大学第 3 外科	2	---
16	東京女子医科大学第 2 外科	3 (内脱落例 2)	---
17	東京女子医科大学第 2 病院	1	---
18	東邦大学大橋病院第 3 外科	---	1
19	浜松医科大学第 2 外科	---	1
20	岐阜大学第 2 外科	8	---
21	藤田保健衛生大学第 2 教育病院	4	1 (内脱落例 1)
22	滋賀医科大学第 1 外科	19 (内脱落例 5)	5
23	大阪医科大学一般消化器外科	---	---
24	大阪市立大学第 1 外科	68 (内脱落例 1)	---
25	関西医科大学第 2 外科	---	---
26	近畿大学第 1 外科	3	---
27	久留米大学第 1 外科	---	---
28	熊本大学第 2 外科	---	4 (内脱落例 1)
29	自治医科大学消化器外科	---	---
30	自治医科大学大宮医療センター	8	---
31	島根医科大学第 1 外科	3 (内脱落例 3)	---
32	山口大学第 2 外科	---	---
合 計		521 (内脱落例 207)	142 (内脱落例 90)

脱落例は m 癌を含む。

表2 2次研究登録者数一覧表

施設No.	施設名	胃		大腸	
		採血者数	本登録数	採血者数	本登録数
101	弘前大学第1外科	3	1	---	
102	弘前大学第2外科	---		---	
103	福島県立医科大学第2外科	4	4	---	
107	群馬大学第1外科	3	1	1	
108	筑波大学外科	2	2	---	
109	千葉大学第2外科	5	2	---	
110	東海大学第2外科	94	28	---	
115	東京医科大学第3外科	2		---	
116	東京女子医科大学第2外科	---		---	
117	東京女子医科大学第2病院外科	2		---	
118	東邦大学大橋病院第3外科	3	3	---	
119	浜松医科大学第2外科	1	1	---	
120	岐阜大学第2外科	2	2	---	
121	藤田保健衛生大学第2教育病院	---		---	
122	滋賀医科大学第1外科	---		---	
124	大阪市立大学第1外科	2		---	
126	近畿大学第1外科	---		---	
128	熊本大学第2外科	3	1	---	
130	自治医科大学大宮医療センター外科	---		---	
131	島根医科大学第1外科	---		---	
201	愛知医科大学第1外科	4	1	2	1
202	旭川医科大学第2外科	5	2	---	
203	岡山大学第1外科	1		2	2
204	関西医科大学第2外科	3	2	---	
205	岐阜大学第1外科	1		---	
206	京都警察病院外科	4	4	---	
207	京都大学第1外科	1	1	---	
208	京都大学第2外科	---		---	
209	京都府立医科大学第2外科	1	1	---	
210	慶應義塾大学外科	2	1	---	
211	県立愛知病院外科	4	4	---	
212	山口大学第2外科	---		2	1
213	自治医科大学消化器一般外科	3		---	
214	鹿児島大学第1外科	1	1	---	
215	順天堂大学浦安病院外科	3	3	---	
216	聖マリアンナ医科大学第1外科	1	1	---	
217	大阪医科大学一般消化器外科	---		---	
218	大阪大学腫瘍外科	---		---	

施設No.	施設名	胃		大腸	
		採血者数	本登録数	採血者数	本登録数
219	大阪府立成人病センター外科	3	2	---	
220	朝日大学村上記念病院外科	---		2	2
221	長崎大学第1外科	1	1	---	
222	帝京大学市原病院外科	4	3	2	2
223	都立駒込病院外科	---		---	
224	東京女子医科大学消化器病センター	1	1	---	
225	奈良県立医科大学第1外科	2	2	---	
226	日本医科大学第1外科	---		---	
227	名古屋市立大学第2外科	4	1	1	1
228	名古屋大学第2外科	---		---	
229	関西医科大学男山病院外科	1	1	---	
合計		176	77	12	9

(生越喬二)