総 説

がん免疫療法の時代がやってきた

中 面 哲 也

Era of cancer immunotherapy has come

Tetsuya NAKATSURA

Division of Cancer Immunotherapy, Exploratory Oncology Research & Clinical Trial Center, National Cancer Center

(Accepted March 31, 2016)

summary

The dramatic and long durable anti-tumor effect of immune checkpoint blockade, such as anti-CTLA-4 Ab, anti-PD-1 Ab, and anti-PD-L1 Ab was surprised the world. In addition, CAR-T cell therapy that target the CD19 indicates a very high response rate to the CD19-positive hematologic malignancies. Now, no one doubts the presence of immunity against cancer.

Further, accordingly, tumor-specific neoantigen are attention now, the clinical trials of individualized peptide vaccination that target patient individual neoantigens has begun in the Western. On the other hand, the peptide vaccine therapy that target common self-antigen is not yet been approved in Japan, the development is struggling.

In this paper, I overview the cancer immunotherapy and neoantigen and introduce some development of cancer immunotherapy in Japan.

Key words——cancer immunotherapy; immune checkpoint blockade; neoantigen; chimeric antigen receptor (CAR); cancer vaccine

抄 録

抗 CTLA-4 抗体, 抗 PD-1 抗体, 抗 PD-L1 抗体などのいわゆる免疫チェックポイント阻害抗体の登場により, その劇的かつ長く効く抗腫瘍効果は世界を驚かせ, さらには, CD19 を標的とした CAR-T 細胞療法は CD19 陽性造血器腫瘍に対して極めて高い奏効率を示し, 今や, がんに対する免疫の存在, それらの治療法の有効性について疑う者はいなくなった. また, それに伴い, 腫瘍特異的変異抗原 (ネオアンチゲン) が注目されており, 今や, 患者個別のネオアンチゲンを同定してのそれらを標的とした個別化ペプチドワクチン療法の臨床試験も欧米では始まっている. 一方で, 日本で本格的に取り組んできた共通自己抗原を標的としたペプチドワクチン療法は未だ承認されたものがなく, 開発に苦戦している. 本稿では, まず近年有効性が示されたがん免疫療法やネオアンチゲンについて概説し, 後半は特に日本におけるがんに対する免疫療法の開発状況を期待とともに紹介する.

1. はじめに

がん免疫療法は, 手術, 抗がん剤, 放射線治療に続く第4の治療法として古くから期待されてきたが, これまではその期待に十分にこたえることができなかった. しかし, 近年, 抗 CTLA-4 抗体, 抗 PD-1 抗体, 抗 PD-L1 抗体などのいわゆる免疫チェックポイント阻害抗体の登場により, その劇的かつ長く効く抗腫瘍効果は世界を驚かせ, さらには, CD19 を標的とした CAR-T 細胞療法は CD19 陽性造血器腫瘍に対して極めて高い奏効率を示し, 今や,

がんに対する免疫の存在, それらの治療法の有効性について疑う者はいなくなった. 一方で, ここ最近日本で本格的に取り組んできたペプチドワクチン療法に代表されるがんワクチン療法はまだ承認されたものがなく, 開発に苦戦している. 本稿では, がんに対する免疫療法全体の開発状況を期待とともに概説する.

2. 近年有効性が示されたがん免疫療法

①リンパ球除去前処置後の腫瘍浸潤リンパ球

(Tumor infiltrating T lymphocytes: TIL) 移入療法

Rosenberg SA らの, メラノーマの TIL を体外で大量培養し, 化学療法や免疫抑制剤の投与, X 線全身照射による体内のリンパ球除去後に, 培養した TIL

を移入する治療法が、70%を超える奏効率を誇ってきた¹⁾。この治療によりすでに1000人以上の治療不能と言われた進行メラノーマの患者が完全治癒しているというから驚きである。全身のリンパ球を除去する意味は、我々の体にはリンパ球の数を一定に保つホメオスターシスが成立しているが、一旦リンパ球をゼロにしてスペースをつくり、そこに体外で大量培養したがん細胞を殺せるリンパ球を戻してあげると、ホメオスターシスにより、戻したリンパ球が増殖して、体中ががんを殺すリンパ球だらけになるというしくみ（Homeostatic proliferation）を使ったものであるとともに、Tregなどの抑制性リンパ球を一過性に除去することで、抗腫瘍免疫応答を増強できるというものである。近年この治療法の効果の根拠が、後に述べるが、遺伝子変異に由来する免疫原性の高い非自己変異ペプチドであることが明らかにされてきている（メラノーマは紫外線による遺伝子変異が極めて多いがん種である）。比較的TILを増やすことが容易なメラノーマではこの治療は成功しているが、固形がんでも同様な治療が成り立つかどうかは今後の課題である。日本でも慶應大学でメラノーマと子宮頸がんを対象とした臨床試験がスタートした。

②免疫チェックポイント阻害抗体療法

免疫チェックポイント阻害剤の開発の成功は言うまでもなく、抗CTLA-4抗体、抗PD-1抗体、抗PD-L1抗体の開発にとどまらず、他の様々なT細胞の抑制シグナルを解除するもの、活性化シグナルを増強するものなど様々な治療薬が開発されており、それらと他の治療法との併用療法の臨床試験も数えきれないほど実施されている。メラノーマや非小細胞肺癌、腎がんのみならず、様々ながん種（頭頸部がん、膀胱がん、胃がん、食道がん、ホジキンリンパ腫、B細胞系の悪性リンパ腫、肝細胞がん、小細胞肺癌等）に対して、各種の抗PD-1抗体およびそのリガンドであるPD-L1分子をブロックする抗PD-L1抗体療法が有効性を示して期待されている反面、大腸がんや膵がんなどの治療成績は芳しくない。大腸がんにおいては、DNAマイクロサテライト不安定性（microsatellite instability: MSI）が高い大腸がんに限っては、PD-L1が発現しており、抗PD-1抗体が著効することが示されている。免疫チェックポイント阻害療法ががんに着効する場合の根拠としても、遺伝子変異が多いことが示されている。

一方で、いいことばかりではなく、免疫チェックポイント阻害剤にともなう副作用（immune related Adverse Event (irAE)）として、胃腸障害、肝障害、肺臓炎、皮膚障害（中毒性表皮壊死症を含む）、神経障害、内分泌障害（甲状腺機能低下、副腎不全、下垂体炎）等が生じることが知られており、著効を示す患者に限られていること、治療費が高額なこと、いつまで投与すればいいのか不明なことなどが問題となっている。

③遺伝子改変T細胞移入療法

自己のリンパ球に特定の抗原に対する抗原受容体遺伝子をウイルスベクターなどで導入・発現させ、人工的にがん抗原特異的に改変したT細胞を体外増幅してから輸注する治療法の開発が注目を集めている。主な方法として、がん抗原ペプチドを特異的に認識するT細胞受容体（T-cell receptor, TCR）や、がん細胞表面に発現している標的抗原に対するキメラ抗原受容体（chimeric antigen receptor, CAR）を遺伝子導入する方法がある（図1）。

TCRについては、各種がん抗原（MART-1, gp100, p53, CEA, NY-ESO-1等）に対する抗原受容体遺伝子改変T細胞療法の早期臨床試験が行われ有効例が確認されている²⁻⁶⁾。日本でもタカラバイオ・三重大学を中心としたグループが、MAGE-A4, NY-ESO-1のTCRを用いた医師主導治験を実施中である。CARについては、細胞内活性化・シグナル伝達部分を改良した第二世代以降の導入ベクターを用い始めて以降、特に既治療CD19陽性造血器腫瘍において高い寛解率を示す事が相次いで報告されている⁷⁻¹¹⁾。現在さらに、他の抗原を標的とした早期臨床開発も行われているが、固形がんを対象とした臨床試験においては、まだ画期的な成果は報告されていないのが現状である。日本オリジナルの固形がんにも著効を示すような遺伝子導入T細胞療法の開発が期待される。

これらの治療では、強力な臨床効果の反面、急激な腫瘍細胞の傷害による腫瘍崩壊症候群も起こり得る。抗原受容体遺伝子改変T細胞療法では、当初の想定を越えた標的抗原または類似抗原の正常組織での発現に対する反応性（off-target effect）による死亡例が報告されており、抗原（ペプチド）の特異性の確保が求められる。またCAR遺伝子導入T細胞療法ではサイトカイン遊離症候群（cytokine release syndrome, CRS）を引き起こす頻度が高いと報告さ

図1 遺伝子導入 T 細胞療法の開発
日本オリジナルの固形がんにも効く遺伝子導入 T 細胞療法の開発を

れている。CRP が高値になると特に注意が必要で、ステロイド投与のタイミングを逸しないことが重要である。重篤な場合は抗 IL-6 レセプター抗体投与が有効とされている。

3. 腫瘍特異的変異抗原（ネオアンチゲン）

腫瘍特異的変異抗原は、今まさに Neoantigen ネオアンチゲンと呼ばれ大きく注目されている。メラノーマでは紫外線により多くの遺伝子変異が生じており、喫煙者の肺がんでも同様である。遺伝子変異によりアミノ酸にも変異が生じるとそれが異物のペプチドとして HLA に提示され、T 細胞に認識されやすいことがわかっている。前述した TIL 移入療法や免疫チェックポイント阻害療法ががんに着効する場合の根拠として、この遺伝子変異が多いことが示されている。実際、抗 PD-1 抗体が著効を示すがん種には遺伝子変異が多いことが知られている。次世代シーケンサーやバイオインフォーマティクスの技術の発展も相まって、このような事実とともに、遺伝子変異は患者個々によって極めて多様であることが明らかとなってきた。この技術を使って個別化がんワクチン療法が可能ではないかと考えられ、いよいよ腫瘍特異的変異抗原（ネオアンチゲン）由来がんワクチンを用いた個別化がんワクチン療法の臨床試験が現実のものとなり、マウスモデル等でのエビデンスに基づいて¹²⁻¹⁵⁾、欧米で様々な試験が始まっている（図 2）。これまでの共通自己抗原を標的としたがんワクチン療法の奏効率をはるかにしのぐ成績が出るのか、期待を持って見守りたい。さらに、Rosenberg SA らは、ネオアンチゲンを認識する

細胞傷害性 T 細胞（CTL）の T 細胞受容体（TCR）を同定して、がんワクチンよりも抗腫瘍効果の高い TCR 遺伝子導入 T 細胞療法を個別化がん免疫療法に応用しようとしている（図 3）。

4. がんペプチドワクチン療法の開発は苦戦している

1991 年の Boon らによるメラノーマ抗原 MAGE の同定¹⁶⁾により、CTL が、がん細胞表面の HLA に提示されているペプチドを認識してがん細胞を殺傷していることに科学的なエビデンスが得られて以来、多数のがん抗原が同定され、主にはがん細胞に特異的に高発現し、なおかつ発現頻度の高い自己抗原を用いたがんワクチンの臨床試験が行われてきた。Rosenberg SA が 2004 年に、がんワクチンの腫瘍縮小効果を示す Objective response は 2.6% に過ぎないことを発表した¹⁷⁾が、日本ではそれでも固形がんに対するがん抗原由来のペプチドを同定し、臨床試験を行うという試みが次々に行われ、様々な施設から有効例の報告も相次いで、いくつかの成果は企業治験に引き継がれている。がんペプチドワクチン療法は、患者の QOL を保ったまま生存期間を延ばせる、あるいは再発を予防できる可能性のある治療法として期待されたが、まだ承認されたものはないのが現状である。そんな中、抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体といった免疫抑制分子阻害抗体や、CD19-CAR 遺伝子導入 T 細胞療法が、高い腫瘍縮小効果とともに華々しく登場し、益々がんワクチンに失望の眼差しが降り注ぎつつある。現在実施中の企業治験、あるいは今後の併用治療の成功により、

図2 次世代シーケンサーとバイオフィーマティクスの技術革新により、ネオアンチゲンを同定しての患者個別のがんワクチン療法の臨床試験が可能な時代となった
欧米では既にいくつか臨床試験も始まっている。Ton N. Schumacher and Robert D. Schreiber. Science. 348: 69, 2015. より引用改変。

図3 患者がん組織検体を使用し、遺伝子変異由来抗原ペプチドとそれを認識するTCRを同定し治療へ応用することも可能
がんワクチンよりも抗腫瘍効果の高いTCR遺伝子導入T細胞療法を個別化がん免疫療法に応用。しかし、個別化医療としてのTCR遺伝子導入T細胞自家移植治療の費用は極めて高額。Rosenberg SA, Restifo NP. Science. 348: 62-68, 2015. より引用。

ペプチドワクチンが医薬品として承認され、一発逆転してほしいと願うばかりである。

著者らは glypican-3 (GPC3) ががん特異的抗原であることを見出し、特異的なCTLを誘導できるHLA-A2拘束性GPC3₁₄₄₋₁₅₂ (FVGEFFTDV)、HLA-A24拘束性GPC3₂₉₈₋₃₀₆ (EYILSLEEL) ペプチドを同

定し¹⁸⁾、肝細胞がんを中心としてGPC3ペプチドワクチン療法の様々な臨床試験を実施してきた¹⁹⁻²¹⁾。ワクチンの安全性と免疫学的有効性を確認し、臨床効果を誘導する可能性を示し、その成果は企業に導出されたが、今後の開発に暗雲が垂れ込めている。卵巣明細胞腺がんを対象とした臨床試験でも抗腫瘍

効果が得られた症例を複数経験しており、進行がんでも確かに効いたと言える症例は存在するが、現時点では共通自己抗原を標的としたがんペプチドワクチン療法の腫瘍縮小効果は限定的であると言わざるを得ない。ペプチド特異的 CTL を多数誘導できる優れたペプチドワクチンがあっても、そもそもがん細胞表面の HLA class I 分子に十分なペプチドが提示されていないと、がん細胞の傷害は起こらない。著者らはペプチド腫瘍内局注療法²²⁾や、免疫調節因子に関与する抗体とワクチンとの併用療法²³⁾など、ペプチドワクチン療法の効果増強法の開発にも取り組んできた。

それでは再発予防効果はどうか？ 著者らは、肝細胞がん根治的治療後 40 例を対象として、GPC3 ペプチドワクチン療法を補助療法として 1 年・2 年再発率を評価する単アームの臨床第 2 相試験を実施した。GPC3 発現陰性は予後良好因子のため、GPC3 発現陽性例に限ってコントロール群と比較すると、GPC3 ペプチドワクチン療法によって、再発率を抑えられる可能性が示唆された²⁴⁾。しかし、一方で、1 種類の共通自己抗原を標的としたペプチドワクチンでは再発を完全に抑えることはできないことも明らかとなった。食道がんにおいては根治的治療後の再発予防効果を検証するペプチドカクテルワクチンの企業治験も実施されているが、期待通りの結果が出るか注目されている。個別化がんワクチン療法の考え方も導入すれば、切除後も再発率の高いがん種の再発予防法につながるかもしれないし、肝細胞がん発症予備群である肝炎・肝硬変患者の肝細胞がん発症予防法こそ、がんワクチンでなんとかしたいものである。

一方、GPC3 ペプチドワクチン療法臨床試験の副産物として、ワクチン投与患者の末梢血やがん組織から、多種類の GPC3 ペプチド特異的 CTL クローンの樹立に成功した。これらの一部は、GPC3 ペプチドを提示しているがん細胞を殺傷する能力の高いものであり²⁵⁾、これらの TCR をクローニングすることにより、TCR 遺伝子導入 T 細胞療法の開発に応用可能である。著者らは、京都大学 iPS 細胞研究所の金子らとともに、iPS バンクを用いて、GPC3 ペプチド特異的 TCR を遺伝子導入した iPS 細胞由来の T 細胞を作製してがん治療に応用する共同研究を既に開始している。これらの GPC3 ペプチド特異的 TCR は、投与局所の発赤腫脹以外には特にペプチドワクチン療法の有害事象を認めなかった

患者の体内の CTL からクローニングしたものであり、すなわちその TCR は安全性が担保されている。TCR 遺伝子導入 T 細胞療法は、ペプチドワクチン療法に比較して一般に抗腫瘍効果に優れており、GPC3 ペプチドを提示する進行がんに対する治療法として開発に期待している。

著者らは、GPC3 ペプチドワクチンに引き続き、小児固形がんを対象としたペプチドカクテルワクチン療法の臨床第 1 相試験を医師主導治験として完了し、同じく著者らが同定した HSP105 ペプチドワクチン療法²⁶⁾の医師主導治験をスタートした。これらの臨床試験がペプチドワクチン療法の開発につながれば申し分ないが、仮に劇的な抗腫瘍効果を見いだせなかったとしても、TCR 遺伝子導入 T 細胞療法の開発に望みをつなぐことができる。

5. 著者らが関与している日本発のがん免疫療法の開発について

がん免疫療法の開発が大成功をおさめた今、日本としては指をくわえて黙ってみているわけにはいかない。著者らは様々な有望なシーズを持つ研究者と連携して国立がん研究センターでの臨床応用を目指している。そのうちのいくつかを紹介する。

東京大学松島らは、担がんマウスに抗 CD4 抗体を投与して CD4 陽性細胞（免疫抑制性 Treg のみならず、Th2, pDC, NKT など）を除くと抗原特異的 CD8 陽性メモリー CTL の所属リンパ節での著明な、抗原特異的、抗原依存的増殖・活性化と CTL のがん部位への浸潤が起り、強力な抗腫瘍効果が生じることを示し、さらには、抗 CD4 抗体と様々な免疫チェックポイント抗体（とりわけ抗 PD-1/PD-L1 抗体）、抗がん剤が相乗的／相加的に作用し劇的な抗がん作用を示すことを示した²⁷⁾。松島らは現在、AMED の支援も受けながら IDAC Theranostics, Inc. とともに、強力な NK 細胞依存性 ADCC 活性を有するヒト型化脱フコシル化（ポテリジェント）抗 CD4 抗体の GMP 生産、GLP 基準での安全性試験を進めており、今年中に国立がん研究センターで first in human 医師主導第 1 相臨床治験を開始する予定である。

CAR 遺伝子導入 T 細胞療法は血液腫瘍においては華々しい成果を得ているものの、固形がんにおいてはまだ有望な成績は得られていないのが現状である。山口大学玉田らは、固形がんにも通用する次世代型の CAR-T 細胞療法の開発を目指している。そ

の一つは、がん認識抗体と、玉田らが開発したキメラ抗原受容体 (FITC-CAR) 遺伝子導入 T 細胞²⁸⁾ の組み合わせによって、治療効果を保持しつつ制御を可能にしたシステムである。このシステムの治療法により、以下の4点により、従来の CAR-T 細胞療法の欠点を克服できると期待している。

1. 標的分子に対する抗体との併用により、単一のコンストラクトで様々ながんを認識し、攻撃できる。
2. すでに臨床応用されている抗体において、治療効果の増大、適応の拡大が見込まれる。
3. 複数の抗体を併用することにより、発現量の低い分子群も標的となり、その減少・欠失にも対応できる。
4. CAR-T 細胞の機能は抗体依存性に制御されるため、抗体投与の中止により CAR-T 細胞の機能をシャットダウンすることが可能となる。

また、iPS 細胞テクノロジーを用いた免疫細胞療法の開発ももはや夢ではない (図 4)。熊本大学千住らの、IFN β あるいは γ 産生 iPS 細胞由来ミエロイド系免疫細胞ライン (iPS-ML) については、がん腹膜播種マウスモデルでの有効性は示されており^{29, 30)}、iPS 細胞テクノロジーを用いた免疫細胞療法では、一番臨床応用に近いと考えられる。今後は腹膜播種での臨床応用ではなく、肝転移を対象とした臨床試験の計画に変更し、医師主導治験の実施を目指してさらに非臨床開発を進める。京都大学金子との共同研究「glypican-3 を標的とした iPS 細胞由来再生 T 細胞療法の開発」において、まずは

glypican-3 ペプチド特異的 CTL クローンを iPS-T 細胞化することに成功した。今後は TCR 遺伝子導入 T 細胞療法の開発、CAR 遺伝子導入 T 細胞療法の開発も進めていく。iPS 細胞由来 T 細胞を活用することのメリットとしては、T 細胞の疲弊や老化の影響が除かれていること、度重なる繰り返し治療や iPS 細胞段階での確実な遺伝子操作が可能であることなどがあげられるが、iPS バンクを使用することで、普遍化や低コスト化につながり、独創性を保ちながら創薬としての可能性を高めることができる (図 5)。

6. おわりに

抗 CTLA-4 抗体や抗 PD-1 抗体など免疫抑制分子阻害抗体の奏効率は、ホジキンリンパ腫を除けば、最大でも 30% (メラノーマの場合) であり、他のがんでは 10~20% 程度と推定されている。これらの治療法は高額であり、自己免疫の有害事象も生じる。今後の課題は、どのような患者に有効なのか、有効な場合、いつまで投与を続ければいいのかというバイオマーカーの探索であり、さらには免疫抑制分子阻害療法で効果が認められない多くの患者に対する治療法の開発である。遺伝子変異の多いがんでは、ネオアンチゲン由来の個別化ペプチド群のワクチン療法が救世主になるかもしれない。ペプチドワクチンよりも明らかに抗腫瘍効果が高いと考えられている TCR 遺伝子導入 T 細胞療法を用いた個別化ネオアンチゲン認識 TCR 遺伝子導入 T 細胞療法が実現すれば、画期的な臨床効果も期待できる。一方、遺伝子変異の少ないがんでは、免疫抑制機構を解除

図4 iPS細胞由来免疫細胞療法の開発

日本の強みを活かした iPS 細胞のがん治療への応用, iPS 細胞由来免疫細胞の臨床応用を。図は京都大学 iPS 細胞研究所 金子 新研究室より提供。

図5 がん抗原に特異的な再生T細胞製剤の利点
創薬を目指す上で様々なメリットのあるiPS細胞由来T細胞を活用。
図は京都大学iPS細胞研究所 金子 新研究室より提供。

しても免疫応答を惹起することが困難であり、がんの排除を誘導できないことが明らかにされており、ネオアンチゲンを標的としたがん免疫療法だけではまだ不十分と考えられる。そこでは、GPC3のような共通抗原あるいは患者個々のがん固有の自己抗原を標的としたがん免疫療法が活躍するかもしれない。すべてのがん患者に有効ながん免疫療法の開発を目指そうとするなら、個別化治療の開発に向うしかないのかもしれない。いずれにせよ、本稿で述べたようながん免疫療法、あるいは様々な治療法との併用療法の開発が世界中で繰り広げられている。今後、一つでも多くの有効ながん免疫療法が登場して承認され、多くの患者の元に届けられることに期待したい。

文 献

- 1) Rosenberg, S.A., Dudley, M.E.: Adoptive cell therapy for the treatment of patients with metastatic melanoma. *Curr Opin Immunol.* **21**: 233–240, 2009.
- 2) Morgan, R.A., et al.: Cancer regression in patients after transfer of genetically engineered lymphocytes. *Science.* **314**: 126–129, 2006.
- 3) Johnson, L.A., et al.: Gene therapy with human and mouse T-cell receptors mediates cancer regression and targets normal tissues expressing cognate antigen. *Blood.* **114**: 535–546, 2009.
- 4) Parkhurst, M.R., et al.: T cells targeting carcinoembryonic antigen can mediate regression of metastatic colorectal cancer but induce severe transient colitis. *Mol Ther.* **19**: 620–626, 2011.
- 5) Robbins, P.F., et al.: Tumor regression in patients with metastatic synovial cell sarcoma and melanoma using genetically engineered lymphocytes reactive with NY-ESO-1. *J Clin Oncol.* **29**: 917–924, 2011.
- 6) Linette, G.P., et al.: Cardiovascular toxicity and titin cross-reactivity of affinity-enhanced T cells in myeloma and melanoma. *Blood.* **122**: 863–871, 2013.
- 7) Brentjens, R.J., et al.: Safety and persistence of adoptively transferred autologous CD19-targeted T cells in patients with relapsed or chemotherapy refractory B-cell leukemias. *Blood.* **118**: 4817–4828, 2011.
- 8) Kochenderfer, J.N., et al.: B-cell depletion and remissions of malignancy along with cytokine-associated toxicity in a clinical trial of anti-CD19 chimeric-antigen-receptor-transduced T cells. *Blood.* **119**: 2709–2720, 2012.
- 9) Brentjens, R.J., et al.: CD19-targeted T cells rapidly induce molecular remissions in adults with chemotherapy-refractory acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med.* **5**: 177ra38, 2013.
- 10) Kochenderfer, J.N., et al.: Donor-derived CD19-targeted T cells cause regression of malignancy persisting after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Blood.* **122**: 4129–4139, 2013.
- 11) Davila, M.L., et al.: Efficacy and toxicity management of 19-28z CAR T cell therapy in B cell acute lymphoblastic leukemia. *Sci Transl Med.* **6**: 224ra25, 2014.
- 12) van Rooij, N., et al.: Tumor exome analysis reveals neoantigen-specific T-cell reactivity in an

- ipilimumab-responsive melanoma. *J Clin Oncol*. **31**: e439–442, 2013.
- 13) Snyder, A., et al.: Genetic basis for clinical response to CTLA-4 blockade in melanoma. *N Engl J Med*. **371**: 2189–2199, 2014.
- 14) Gubin, M.M., et al.: Checkpoint blockade cancer immunotherapy targets tumour-specific mutant antigens. *Nature*. **515**: 577–581, 2014.
- 15) Rizvi, N.A., et al.: Cancer immunology. Mutational landscape determines sensitivity to PD-1 blockade in non-small cell lung cancer. *Science*. **348**: 124–128, 2015.
- 16) van der Bruggen, P., et al.: A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science*. **254**: 1643–1647, 1991.
- 17) Rosenberg, S.A., et al.: Cancer immunotherapy: moving beyond current vaccines. *Nat Med*. **10**: 909–915, 2004.
- 18) Komori, H., et al.: Identification of HLA-A2- or HLA-A24-restricted CTL epitopes possibly useful for glypican-3-specific immunotherapy of hepatocellular carcinoma. *Clin Cancer Res*. **12**: 2689–2697, 2006.
- 19) Sawada, Y., et al.: Phase I trial of a glypican-3-derived peptide vaccine for advanced hepatocellular carcinoma: immunologic evidence and potential for improving overall survival. *Clin Cancer Res*. **18**: 3686–3696, 2012.
- 20) Sawada, Y., et al.: Remarkable tumor lysis in a hepatocellular carcinoma patient immediately following glypican-3-derived peptide vaccination: an autopsy case. *Hum Vaccin Immunother*. **9**: 1228–1233, 2013.
- 21) Suzuki, S., et al.: Significant clinical response of progressive recurrent ovarian clear cell carcinoma to glypican-3-derived peptide vaccine therapy: two case reports. *Hum Vaccin Immunother*. **10**: 338–343, 2014.
- 22) Nobuoka, D., et al.: Intratumoral peptide injection enhances tumor cell antigenicity recognized by cytotoxic T lymphocytes: a potential option for improvement in antigen-specific cancer immunotherapy. *Cancer Immunol Immunother*. **62**: 639–652, 2013.
- 23) Sawada, Y., et al.: Programmed death-1 blockade enhances the antitumor effects of peptide vaccine-induced peptide-specific cytotoxic T lymphocytes. *Int J Oncol*. **46**: 28–36, 2015.
- 24) Sawada, Y., et al.: Phase II study of the GPC3-derived peptide vaccine as an adjuvant therapy for hepatocellular carcinoma patients. *OncoImmunology*. in press.
- 25) Yoshikawa, T., et al.: HLA-A2-restricted glypican-3 peptide-specific CTL clones induced by peptide vaccine show high avidity and antigen-specific killing activity against tumor cells. *Cancer Sci*. **102**: 918–925, 2011.
- 26) Sawada, Y., et al.: Identification of HLA-A2 or HLA-A24-restricted CTL epitopes for potential HSP105-targeted immunotherapy in colorectal cancer. *Oncol Rep*. **31**: 1051–1058, 2014.
- 27) Ueha, S., et al.: Robust Antitumor Effects of Combined Anti-CD4-Depleting Antibody and Anti-PD-1/PD-L1 Immune Checkpoint Antibody Treatment in Mice. *Cancer Immunol Res*. **3**: 631–640, 2015.
- 28) Tamada, K., et al.: Redirecting gene-modified T cells toward various cancer types using tagged antibodies. *Clin Cancer Res*. **18**: 6436–6445, 2012.
- 29) Koba, C., et al.: Therapeutic effect of human iPS-cell-derived myeloid cells expressing IFN- β against peritoneally disseminated cancer in xenograft models. *PLoS One*. **8**: e67567, 2013.
- 30) Senju, S., et al.: Application of iPS cell-derived macrophages to cancer therapy. *Oncoimmunology*. **3**: e27927, 2014.