

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 25 日現在

機関番号：34419

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23592000

研究課題名(和文)肝細胞癌に対するペプチドワクチンカクテル療法

研究課題名(英文)Peptide-cocktail vaccination for hepatocellular carcinoma

研究代表者

石川 原 (ISHIKAWA, Hajime)

近畿大学・医学部・講師

研究者番号：90309302

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：ゲノム解析により発見された肝臓において発現している新規癌抗原(WDRPUH, FOXM1, MELK, HJURP)由来HLA-A2402拘束性エピーペプチドとアジュバントを混合した癌ワクチン療法を行った。五人に施行し、一人に腫瘍縮小効果を認め、一人にSDと癌の進行が制御された。一人に食道静脈瘤からと思われる出血grade2を認めしたが、ワクチンの効果による出血ではないと判断した。また、皮膚の硬結も認めた。grade2を超える有害事象は認めなかった。

研究成果の概要(英文)：We performed the peptide-cocktail vaccination for hepatocellular carcinoma. The vaccine mixes an adjuvant with WDRPUH, FOXM1, MELK, HJURP-derived and HLA-A24-restricted epitope peptides. The vaccine was tried on five liver cancer patients till the present. One patient had reduction of the tumor. The other patient had SD. Although adverse events were skin induration and gastrointestinal bleeding, both were two or less grades.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科学一般

キーワード：肝臓ワクチン治療 免疫治療

1. 研究開始当初の背景

肝癌について

肝細胞癌は原発性肝癌の90%以上を占める。本邦において肝細胞癌による死亡率は人口10万人あたりの粗死亡率は、男性が36.4、女性が17.6、全悪性新生物において、男性が13.8%、女性が8.9%で、悪性新生物中の死亡率の第3位と第4位となっている。全国がん(成人病)センター協議会によると、1997年から2000年の初回入院症例での病期別5年生存率は、Stage : 54.6% Stage : 43.1% Stage 24.8% Stage : 9.4%と未だに発展途上である。肝に限局した肝細胞癌の治療は、切除、ラジオ波熱焼灼術、マイクロ波凝固壊死療法、肝動脈化学塞栓術(transcatheter arterial chemoembolization : TACE)などがあるが、5年生存率はそれぞれ、53.4%、57.3%、49.2%、21.3%と満足いく結果ではない。全身化学療法や肝動注も行われているが、標準とされるものは示されていない。近年、肝機能の理由により切除不能な肝細胞癌に対して肝移植術が行われるようになった。ミラノ基準(単発5cm以下か、多発でも3cm以下で3個以内)を満たした症例では4年生存率は80%との報告されており、症例数は年々増加してきているが、必ずドナーが必要であり、肝癌治療成績へ貢献度はまだ小さい。近年、分子生物学の発展により癌の増殖機構の解明が進み、その増殖活性を抑制する機序を有する薬剤が多数出現し、肝細胞癌においてはソラフェニブが注目されている。進行肝細胞癌に対してソラフェニブ投与群とプラセボ群と比較検討した結果、ソラフェニブ群の生存中央値は10.7ヶ月とプラセボ群の7.9ヶ月とソラフェニブ群の有意性が示され、保険適応となったが、予後の延長は3ヶ月であり進行癌においては大きな期待は持てない。以上より、肝細胞癌の治療成績の向上のためには新たな治療法の開発が急務と思われる。

腫瘍抗原ペプチドを用いた抗腫瘍免疫療法の背景

近年、悪性黒色腫を中心に腫瘍抗原が同定され、この腫瘍拒絶抗原ペプチドを用いた臨床試験が行なわれ、一部の症例でその成果が報告されている。その後、IL-2やGM-CSFとの併用、複数の腫瘍拒絶抗原ペプチドを投与するプロトコールや改変ペプチドの開発、ペプチドパルス樹状細胞の臨床試験などが試みられ、現在も腫瘍拒絶抗原ペプチドを用いた抗腫瘍免疫療法は、外科手術や化学療法など従来の治療法を補完する治療として期待されている。

一方、腫瘍抗原は現在も種々の手法により同定が試みられ報告されている。しかしながら、腫瘍細胞に高発現するものの正常細胞には発現せず、強い免疫原性を有する等の理想的な条件を満たす腫瘍抗原の例は少ない。また、同定された腫瘍抗原の多くは悪性黒色腫が対象であり、消化器領域の癌については、現在のところきわめて限られているのが現状である。近年、cDNAマイクロアレイ法の開発により、腫瘍における数多くの遺伝子発現を網羅的に探索でき、腫瘍の性質、特徴が遺伝子レベルで解析できるようになった。この手法を用いて肝細胞癌に高発現している新規分子WDRPUH,FOXM1,MELK,HJURPが同定された。さらに、WDRPUH,FOXM1,MELK,HJURPが腫瘍抗原であることと免疫原性があることが証明され、日本人にもっとも頻度が高い(60%)HLA-A24拘束性のエピトープペプチドが同定された。

現在、世界各国でもがんワクチン療法は、急速に臨床試験が進みつつあり、2009年9月、FDA(Food and Drug Administration:米国食品医薬品局)はがんワクチン療法についての承認申請に向けた基本的な考え方を示すドラフト・ガイダンスを公表した。その中で、がんワクチンのように、理論的にヒトでしか

薬効効果を示さない新規薬剤に対しては、動物を用いた非臨床試験よりも、ヒトへの投与経験により得られた情報が治験を実施する上で非常に重要視されること、がんワクチンによる免疫活性化のための適切な時間を確保するために、より早期からがんワクチン療法臨床試験を行う根拠、また進行癌においては、臨床試験実施中に免疫応答が得られる前にしばしばがんの進行が認められる例があることからPDとなってもがんワクチン療法を中止する根拠には必ずしもならないことなど、がんペプチドワクチン療法臨床試験を実施する上で重要となる、既存の抗がん剤の評価方法と異なる基本的な考え方が示された。これらは我々が臨床試験より得られた知見により以前より主張してきた考え方と一致する。がんワクチン療法は、副作用が少なく、効果発現に時間を要するが微小癌病変に効果的であろうことが示され、特に治療後期に生存に寄与する可能性のある新規治療法として、大きな転換期を迎えつつある。

2. 研究の目的

目的は肝癌の治療成績向上のため、肝癌に発現する新規癌抗原をターゲットとした免疫ワクチン療法の開発である。この治療法の安全性と臨床効果を検証する臨床試験である。また、副次目的として、無増悪生存期間 Progression free Survival (PFS)、全生存期間 Overall survival (OS)、腫瘍縮小効果に関連する情報を解析する。

3. 研究の方法

研究対象者の選択基準

A 適応症例

1. 病歴および画像診断で肝癌と診断されている。手術、ラジオ波焼灼治療、肝動脈塞栓療法、化学療法、放射線療法、分子標的療法の適応が無い。
2. Performance status 0~1
3. 登録時の年齢は20歳以上80歳以

下

4. RECISTによる計測可能病変があること。
5. 前治療から4週間以上経過していること。
6. 3ヶ月以上の生命予後が見込めること
7. 骨髄機能(白血球 1500以上、15000以下、血小板5万以上)
Chid-Pugh A or B、腎機能(Cr基準値の3倍以下)が保たれていること
8. HLA-A*2402を有すること
9. 治療内容を理解し、本人の同意を文書で得られること

B 除外症例

1. 食道・胃静脈瘤を持つ患者で、出血既往のあるもの。F₂以上の静脈瘤またはF因子に関係なくred color sign(RC₂以上)陽性のもの。
2. 妊婦、授乳婦、妊娠の可能性のあるもの、妊娠の希望があるもの
3. 制御困難な活動性感染症を持つ
4. 試験中に以下の薬剤を投与する必要があるもの
副腎ステロイド剤の全身投与、免疫抑制剤の全身投与
(非ステロイド性消炎鎮痛剤は使用を認める)
5. 肝移植後
6. 医師、責任医師が不適と認めたもの
7. 抗癌剤、分子標的治療薬等 現疾患に対する加療を希望するもの

ペプチドおよびアジュバントの投与量および投与方法

合成ペプチド 1mg を IFA (MONTANIDE*ISA51, SEPPIC, France) 1~2ml と混合し、患者の腋下あるいは鼠径部付近に皮内注射する。

投与スケジュール

エントリー基準を確認し、文書により同意を得てから行う。ワクチンを1週間ごとに4回投与する。4回投与までを1コースとして1週間後に一般採血、腫瘍マーカー、免疫能測定、胸部レントゲン、画像検査を行う。その1週間後に2コース目を実施する。継続する場合、3コース以降からは2週間ごとに4回投与する。

評価項目

各コースの前後で以下の項目()を行う。

身体所見

一般状態、バイタルサイン、腫瘍が体表から観察可能な際は計測、アレルギー反応(血圧低下・頻脈・呼吸困難の有無、皮疹)

一般的血液・尿検査

血算：白血球数，赤血球数，ヘモグロビン値，ヘマトクリット，血小板数

凝固：プロトロンビン時間，活性化部分トロンボプラスチン時間，フィブリノゲン値，フィブリン分解産物

生化学：グルタミンオキザロ酢酸トランスフェラーゼ(GOT)，グルタミンピルビン酸トランスフェラーゼ(GPT)，アルカリフォスファターゼ(ALP)，乳酸脱水素酵素(LDH)，ロイシンアミノペプチターゼ(LAP)，グルタミル転換酵素(GTP)，総ビリルビン値(T.Bil)，直接ビリルビン(D.Bil)，総蛋白(TP)，アルブミン値(Alb)，尿素窒素(BUN)，クレアチニン(Cr)，尿酸(UA)，ナトリウム(Na)，カリウム(K)，クロール(Cl)，カルシウム(Ca)，無機リン(iP)，血糖値，アミラーゼ，クレアチンキナーゼ

血清：C反応性蛋白(CRP)，免疫グロブリン(IgG/A/M，IgE)，抗核抗体

腫瘍マーカー：FP，PIVKA など

間質性肺炎マーカー：KL-6,SP-A,SP-D など

尿定性・沈査

胸部レントゲン

CT、MRIのいずれかあるいは両者

ガリウムシンチグラム(必要時)、骨シンチグラム(必要時)、PET(必要時)

末梢血を用いたモニタリング(CTL activity, HLA-tetramer) 50mlの採血を行い、PBMCを回収し解析する。

品質管理

ペプチドに関して

共同研究先である東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターよりGMP gradeのペプチドの供与を受ける。

アジュバントに関して

共同研究先である東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターよりGMP gradeのIncomplete Freund's Adjuvant (MONTANIDE*ISA51, SEPPIC, France)を購入する。

4. 研究成果

5人に本臨床試験を行った。

安全性に関して

1人に胃静脈瘤からと思われる出血grade2を認めたが、ワクチンの効果による出血ではないと判断した。また、全員に皮膚の発赤・硬結を認めたが、grade2を超える有害事象は認めなかった。皮膚の反応は有害事象でもあるが、DTH(delayed type hypersensitivity)と理解しており、期待すべき免疫反応でもある。

1人に腫瘍縮小効果を認め、2人にSDと癌の進行が制御された。

現在2人が、追加されており、両者の治療が終了した後、免疫学的解析(CTL activity, HLA-tetramer)を行う予定である。

5. 主な発表論文等
(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計0件)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<https://www.facebook.com/pages/%E8%82%9D%E7%99%8C%E3%83%AF%E3%82%AF%E3%83%81%E3%83%B3/135021826686415>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

石川 原 (ISHIKAWA, Hajime)
近畿大学・医学部・講師
研究者番号：90309302

(2) 研究分担者

奥野清隆 (OKUNO, Kiyotaka)
近畿大学・医学部・教授
研究者番号：30169239

竹山宜典 (TAKEYAMA, Yoshifumi)
近畿大学・医学部・教授
研究者番号：70263374

中居卓也 (NAKAI, Takuya)
近畿大学・医学部・准教授
研究者番号：60227725