膵がんに対する樹状細胞ワクチンの開発と治験

勝田将裕 Masahiro KATSUDA 和歌山県立医科大学外科学第2講座講師
山上裕機 Hiroki YAMAUE 和歌山県立医科大学外科学第2講座教授

1 はじめに

我が国における膵癌の年間死亡数は約31,000人で肺癌，胃癌，結腸癌に次いで第4位と報告されている．発生率，死亡率ともに増加しており，60～70%の患者が診断時に高度進行癌である．現在，膵癌に対して長期生存が望める唯一の治療が外科治療であるが，根治手術がなされた症例でも大半が術後再発をきたすことから，予後不良／難治性の悪性腫瘍とされている．したがって，膵癌患者の生命予後改善には新規治療戦略の開発が急務である．

我々は，がんに対する免疫療法であるがんワクチンを開発しており，2017年3月より標準療法不応進行膵癌に対する樹状細胞ワクチンの創薬を目的とした医師主導治験を開始した．本稿では，がん免疫の基礎と免疫療法の現況を概説したうえで，膵癌に対するがんワクチン療法，特に樹状細胞ワクチンの作用メカニズムと開発状況を述べる．

2 がん免疫機構

免疫とは「疫を免れる」という意であり，外敵・異物から生体を守る生体防御機構の要である．外敵・異物には「抗原」という目印が存在し，それを標的に免疫機構は反応・機能して外敵・異物の情報を記憶し，それらの再度の侵入に迅速に対応する．がんにも抗原性が存在し，免疫機構が反応していることが解明されて今日に至っている．すなわち，がん細胞内には「がんの目印」となるがん抗原が特異的に発現しており，さらに，がん細胞表面にはHLA Class I分子に9～10アミノ酸残基から成るがん抗原由来で特有のペプチドが提示されている．また，がん細胞を異物として貪食した樹状細胞などの抗原提示細胞(antigen presenting cell：APC)も同様に，HLA分子を介してがん抗原由来のペプチドを提示することができる(priming phase)．APCはがん細胞を貪食して所属リンパ節に遊走すると，ペプチド特異的T細胞受容体を有する細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte：CTL)やヘルパーT細胞にこのペプチド情報を抗原提示し，これにより特異的CTLが増殖活性化することでがん細胞を選択的に攻撃する(effector phase)．言い換えると，CTLはがん免疫機構において直接がんを攻撃する「兵隊」として働き，樹状細胞などのAPCは兵隊にがんの目印を示して攻撃を命令する「司令官」の役割をしている(図1)．

一方，がん細胞自身は免疫細胞からの攻撃を逃避する機構を有している．特に，免疫チェックポイントと呼ばれる共刺激分子を介したCTLの活性化や不活化が注目されており，がん免疫においては免疫抑制性の免疫チェックポイントの働きによりCTLががんを攻撃できない状態になっていることが明らかとなってきた．このように，がんに対する免疫機構が明らかになってきたことで，このメカニズムを利用したがん免疫療法の開発が行われている．

3 がん免疫療法

がんに対する免疫療法として，免疫チェックポイント阻害薬の開発が急ピッチで進められている．[1)] 免疫チェックポイント阻害薬は，cytotoxic T-lymphocyte antigen-4(CTLA-4)やprogrammed cell death 1(PD-1)といった免疫チェックポイント分子を標的としたモノクローナル抗体である．すなわち，免疫チェックポイントによるCTLに対

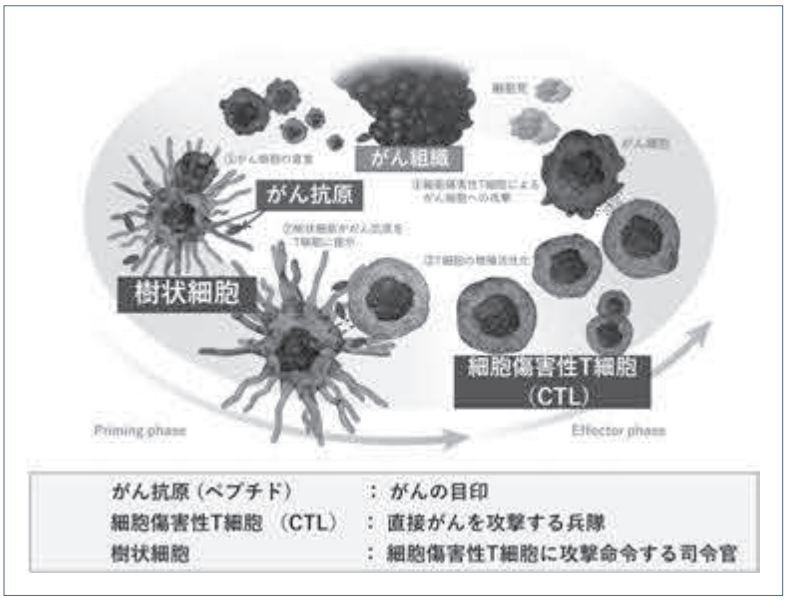

図1　がん免疫機構

する免疫抑制を，抗体によって解除することで抗腫瘍効果を発揮する．抗 PD-1 抗体は CTL が腫瘍を攻撃する effector phase において，抗 CTLA-4 抗体は CTL を誘導する priming phase において主に CTL に作用し，CTL が不活化するのを妨げる．悪性黒色腫，肺癌，腎細胞癌などに対する適応に加え，今後も様々な癌腫への応用が有望視されている一方で，抵抗性を示す癌腫が存在することも明らかとなってきた．これまでのところ，膵癌に対しても明確な有効性を示すエビデンスは示されていない．

また，治療が保険適応となった癌腫に関しても，免疫チェックポイント阻害薬単独での臨床効果は概ね 15〜20% と報告されているのもが多く，効果が得られる対象は一部に留まっている．この原因の 1 つとして，そもそも患者生体内においてがんに対する特異的な CTL が十分に誘導されていないことが考えられる．例えば，腫瘍における変異遺伝子の数（mutant burden）が免疫チェックポイント阻害薬の臨床効果と相関することが報告されているが，[2] これは遺伝子の異常を認識する CTL の誘導と相関して免疫チェックポイント阻害薬が抗腫瘍効果を発揮することを示している．すなわち，免疫チェックポイント阻害薬を投与して CTL の免疫抑制を解除しようにも，その CTL が存在しなければ効果を発揮できないのである．

一方で，がんワクチン療法は「がんの目印」である抗原情報を人工的に作製し，これを投与することで抗原に対する特異的 CTL を選択的に増殖活性化させてがんを治療する．「がんの目印」として抗原由来のエピトープペプチドやタンパクを直接投与するがんペプチドワクチン療法やタンパクワクチン療法のほかに，試験管内において樹状細胞に抗原をパルスしてから投与する樹状細胞ワクチン療法などがある．免疫チェックポイント阻害薬ががんに対する特異的免疫の免疫抑制を解除する（ブレーキを外す）治療法であるのに対して，がんワクチン療法は特異的免疫の誘導を促進する（アクセルを踏む）治療法といえる．

なお，免疫チェックポイント阻害薬はがんに対する特異的 CTL のみならず，自己抗原に対する CTL の免疫抑制も解除するため，自己免疫疾患の発症など関連副作用が認められるのに対して，がんワクチン療法はがんに特異的な CTL のみを誘導するため，基本的に副作用が極めて少ないという特徴がある．

4　膵癌に対するペプチドワクチン療法の開発

がんワクチンの開発においては，まず，その標的となる抗原，すなわち「がんの目印」の選択が重要である．1991 年にベルギーの Boon らにより，悪性

黒色腫細胞に発現する抗原 MAGE をコードしている遺伝子が初めて同定され,[3] その後，腫瘍において特異的または過剰に発現する抗原とその遺伝子が数多く同定されている．がんペプチドワクチン療法は，このような腫瘍関連抗原を由来として HLA クラスⅠに提示されるエピトープペプチドを同定し，抗原由来ペプチドを「がんの目印」として合成してそのまま患者に投与することで，抗原を発現する腫瘍細胞を特異的に傷害する CTL を誘導する治療戦略である．

和歌山県立医科大学外科学第 2 講座は切除不能進行再発膵癌患者を対象とした膵癌ペプチドワクチンの開発を目的とした臨床試験を実施してきた．まず，腫瘍新生血管に特異的に発現している vascular endothelial growth factor receptor 2（VEGFR2）を標的としたペプチドワクチンの開発を行った．VEGFR2 に対する HLA-A24 拘束性エピトープペプチド（elpamotide）が同定されたことから,[4] elpamotide とゲムシタビンを併用する医師主導型第Ⅰ相臨床試験を行ったところ，安全性が確認され，elpamotide に対する特異的 CTL 反応を 18 例中 11 例（61%）に認めた．また，ペプチドワクチン皮下注射部位の皮膚反応と臨床効果に相関を認めた.[5] この結果に基づき，切除不能膵癌に対して elpamotide の多施設共同プラセボ対照ランダム化第Ⅱ / Ⅲ相臨床試験（PEGASUS-PC study）が検証試験として実施された．Elpamotide による全生存期間の延長効果は統計学的に認められなかったものの，sub-group 解析では潰瘍を伴う強い注射部位反応を認めた症例（実薬投与群の 10%）で生存期間の延長が示唆された.[6] すなわち，elpamotide による臨床効果を享受できる集団が確かに存在することは示唆されたが，一方で検証試験として elpamotide の進行膵癌患者に対する有用性を示すことはできなかった．さらにその後，標準療法不応膵癌を対象にペプチドカクテルワクチンの臨床効果を検証する多施設共同プラセボ対照ランダム化第Ⅲ相治験（COMPETE-PC）が実施されたが，2014 年 12 月の中間解析にて無効中止となっている．

我々は，これらの進行再発膵癌患者を対象とするネガティブな試験結果をうけて，進行膵癌では腫瘍による免疫逃避機構が強く働くことからがん免疫機構が十分に機能せず，ペプチドワクチンの臨床効果が得られにくいと考えた．一方で，膵癌術後の患者は進行膵癌患者に比べて腫瘍による免疫抑制がなく，ワクチン療法による CTL 誘導とそれに伴う臨床効果を検証しやすいと考えられる．

そこで，がんの免疫逃避を回避し，その効果を最大限に発揮できる膵癌切除後再発予防のためのペプチドワクチン療法に関する探索的第Ⅱ相試験を，2011 年より多施設共同医師主導治験として実施した．膵癌に特異的に発現する腫瘍抗原 KIF20A に対するエピトープペプチドと腫瘍新生血管の特異抗原 VEGFR1 と VEGFR2 に対するエピトープペプチドのカクテルワクチンを切除後膵癌患者の術後補助療法としてゲムシタビンを併用し投与したところ，主要評価項目である disease-free survival（DFS）は 15.8 か月と良好で，特に切除膵癌組織に KIF20A が発現する症例は抗原特異的 CTL の誘導を介して強力に再発を抑制することが示唆された.[7]

以上の膵癌に対する我々のペプチドワクチン療法の開発経緯より，術後の患者に対する再発を予防する治療薬としてのペプチドワクチンの開発は継続して検証をすすめる必要があると考える．一方，現状において進行膵癌に対する抗腫瘍効果は限定的であり，がんワクチンの治療薬としての開発には，更に効率よく強力な CTL を誘導する工夫が必要であると考えられた．

5 樹状細胞ワクチン療法の開発

樹状細胞ワクチンは，ペプチドワクチンよりも効率よく強力な CTL を誘導することができる有望な治療戦略の 1 つと考えられる．樹状細胞は抗原を提示する能力が極めて高い APC であり，腫瘍細胞を免疫システムに標的として認識させる特別な免疫担当細胞である．一方，樹状細胞以外にもマクロファージや B 細胞などが APC として知られているが，このような樹状細胞以外の APC は適切な共刺激シグナルが欠如しており，抗原情報を CTL に抗原提示しても CTL はがんを攻撃しない．また，樹状細胞が抗原情報を CTL に効率的に抗原提示する

ためには，樹状細胞が十分成熟化していることが必要であることも明らかとなっている．すなわち，成熟化した樹状細胞は共刺激分子の発現により効果的にCTLを活性化することができるが，未熟な樹状細胞ではCTLが活性化せず，したがってがんを攻撃できない．

ペプチドワクチン療法では，投与されたペプチドが患者生体内の樹状細胞に表出するHLAに直接送達されることを期待しているが，同時に樹状細胞以外のAPCのHLA上にも送達されることとなる．また，生体内の樹状細胞は通常未熟な状態で存在しており，ペプチドワクチンが活性化CTLを十分に誘導できない可能性が指摘されている．そこで，ペプチドワクチン療法においては，通常樹状細胞を成熟化させるワクチンアジュバント※1をペプチドとともに投与する．[8] 様々なワクチンアジュバントの開発も精力的に進められているが，[9] 樹状細胞を強力に成熟化させるアジュバントは一般に全身性の炎症反応を惹起するため，ペプチドワクチン療法では，生体内で効率的にCTLを誘導し，かつ，重篤な副作用を示さないワクチンアジュバントの開発も課題となっている．

樹状細胞ワクチン療法は，体外において作製した成熟樹状細胞に抗原由来ペプチドをパルスして患者に投与する治療であり，上述のペプチドワクチン療法の問題点を克服することが期待される．樹状細胞ワクチンに用いる樹状細胞は，アフェレーシス※2（成分採血）などで採取した患者の末梢血単球をGM-CSFとIL-4とともに培養することで試験管内において作製することができる．このようにして作製した樹状細胞を試験管内でワクチンアジュバントに曝露して十分成熟化させ，さらに試験管内でがん抗原をパルスすることで，CTLを効率よく誘導するために理想的な樹状細胞ワクチンを試験管内で大量に準備することができる．樹状細胞ワクチンの開発においては，腫瘍抗原ペプチドのみならず抗原タンパクを成熟樹状細胞にパルスして投与する，あるいは腫瘍抗原遺伝子を遺伝子導入した成熟樹状細胞を投与するといった試みもなされている．

※1，2　ワクチンアジュバント，アフェレーシスについての用語解説は，1,000頁参照．

2010年4月，ホルモン療法抵抗性前立腺癌の患者に対して樹状細胞ワクチンとして作用するsipuleucel-T（Provenge®）をFDAががんワクチンとして初めて承認した．Sipuleucel-Tは患者から採取した血液を用いて樹状細胞などを採取して成熟化し，前立腺癌の多くで発現している腫瘍抗原prostatic acid phosphataseをパルスしたうえで患者に静脈注射する．Sipuleucel-Tはホルモン抵抗性の進行前立腺癌の患者の予後を生存期間中央値で4.1か月延長することが報告された．[10]

樹状細胞ワクチンは，GMPグレードでの樹状細胞の調整が必要で臨床応用へのハードルは高いが，我が国においても再生医療製品の開発に関する法律が整備されるなどその開発の基盤は整いつつあり，今後の更なる開発が望まれる．

6　進行膵癌に対するWT-1ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの治験

我々は標準療法不応進行膵癌に対する新規治療として，Wilms' tumor gene 1（WT-1）ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの開発を開始した．

WT-1遺伝子は膵癌において特異的に高発現しており，その遺伝子産物であるWT-1タンパクはがんワクチンにおける有望な標的抗原となることが報告されている．[11] また，WT-1抗原に対する強力な特異的CTLを誘導するエピトープペプチドが同定されており，進行膵癌患者を対象とした化学療法併用のWT-1ペプチドパルス樹状細胞ワクチンのレトロスペクティブな報告では，重篤な有害事象なく生存期間を延長することが示唆された．[12, 13] また，同じく進行膵癌患者に対する化学療法併用WT-1ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの臨床試験においても，ワクチン投与による安全性が確認され，免疫反応陽性症例ではワクチンの腫瘍増殖抑制や生存期間の延長が示唆されることが報告されている．[14, 15]

これらの報告を踏まえ，我々は標準療法不応進行膵癌に対するS-1併用WT-1ペプチドパルス樹状細胞（TLP0-001）のプラセボ対象二重盲検ランダム化比較医師主導治験を計画した．膵癌に対する1次療法として，ゲムシタビン＋ナブパクリタキセルの標準化学療法を受けた結果不応もしくは不耐となった

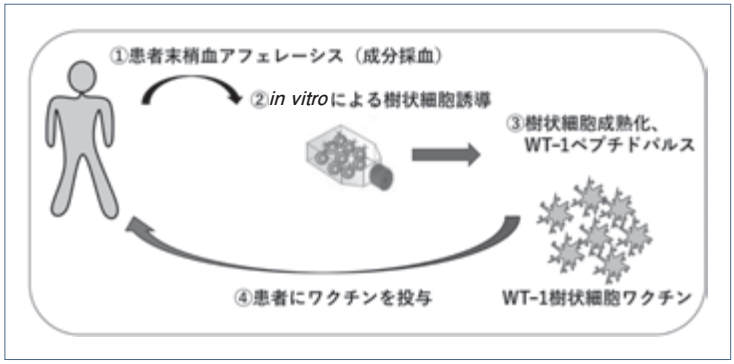

図２　WT-1 ペプチドパルス樹状細胞ワクチン療法

患者を対象に，２次治療として S-1 と併用して投与する樹状細胞ワクチンの安全性を検討するとともに，中央登録※3 により樹状細胞ワクチン投与群とプラセボ投与群に１：１で動的ランダム割り付けを行い，ワクチン投与による全生存期間の延長を検証する第Ⅲ相治験である．樹状細胞ワクチンの作製のために，患者は１次化学療法が不応となる前に末梢血のアフェレーシスを行い，採取した単球から試験管内で培養誘導した樹状細胞を成熟化して WT-1 ペプチドをパルスする．このようにして作製した樹状細胞ワクチンは投与まで凍結保存され，１次化学療法が不応または不耐となった時点で溶解して得られた生細胞を患者に皮内投与する（図２）．併用薬の S-1 は４週間投与２週間休薬の標準用法で，ワクチンは２週間ごとに投与するスケジュールとした．本医師主導治験はがんに対する樹状細胞ワクチンとして，おそらく我が国初の治験であり，2017 年３月より症例の登録を開始した．有効性を検証し，2022 年度の承認申請を目指している．

7　おわりに

がんに対するワクチン療法は積極的に開発されてきたが，これまで我が国では保険承認に至っていない．臨床的な有用性を証明するワクチンの開発には，適切な標的抗原，免疫アジュバント，治療対象，試験デザインなどを選択し，理想的な組み合わせを探索して検証する必要がある．一方で，がんワクチンが効果を発揮するには腫瘍自身が誘導する免疫抑制に対処することが重要であり，免疫チェックポイント阻害剤など確立された免疫療法との併用は魅力的な治療戦略である．しかし，免疫チェックポイント阻害剤の理想的なパートナーとして，がん細胞を撃退する強力な CTL を誘導できるワクチンを開発することが本質的に必須と考える．理論的に強力な CTL を誘導し得る樹状細胞ワクチンは，再生医療製品の開発に対する法律や体制の準備が整ってきた我が国においても迅速な創薬が期待される．

※3　中央登録についての用語解説は，1,000 頁参照．

参考文献

1）Sharma P., Allison J. P., *Cell*, 161, 205-214(2015).
2）Alexandrov L. B. *et al.*, *Nature*, 500, 415-421(2013).
3）van der Bruggen P. *et al.*, *Science*, 254, 1643-1647(1991).
4）Wada S. *et al.*, *Cancer Res.*, 65, 4939-4946(2005).
5）Miyazawa M. *et al.*, *Cancer Sci.*, 101, 433-439(2010).
6）Yamaue H. *et al.*, *Cancer Sci.*, 106, 883-890(2015).
7）Miyazawa M. *et al.*, *Int. J. Cancer*, 140, 973-982(2017).
8）Iwahashi M. *et al.*, *Cancer Sci.*, 101, 2510-2517(2010).
9）Katsuda M. *et al.*, *Int. J. Oncol.*, 39, 1295-1302(2011).
10）Kantoff P. W. *et al.*, *N. Engl. J. Med.*, 363, 411-422(2010).
11）Sugiyama H., *Jpn. J. Clin. Oncol.*, 40, 377-387(2010).
12）Kimura Y. *et al.*, *Pancreas*, 41, 195-205(2012).
13）Kobayashi M. *et al.*, *Cancer Immunol. Immunother.*, 63, 797-806(2014).
14）Koido S. *et al.*, *Clin. Cancer Res.*, 20, 4228-4239(2014).
15）Mayanagi S. *et al.*, *Cancer Sci.*, 106, 397-406(2015).

キーワード

免疫療法，樹状細胞，ペプチド，ワクチン，免疫チェックポイント

Copyright © 2017 The Pharmaceutical Society of Japan