泌尿器がんにおけるがんペプチドワクチン療法

特集 がんの標的療法：基礎と実地臨床

野口 正典*

Personalized peptide vaccination for urological cancer

The field of cancer vaccines is currently in an active state of clinical investigation. Human papilloma virus vaccine has been approved as a prophylactic cancer vaccine, while Oncophage (heat shock protein-peptide complex) was recently approved in Russia for a certain stage of kidney cancer, although to date none has been approved in Japan or the USA. We reviewed recent clinical trials of several different types of cancer vaccine. There have been slow but substantial advances in peptide vaccines and dendritic cell-based vaccines with regard to both clinical response and immunological markers.

A personalized approach to boost immune responses, the addition of chemotherapy to overcome robust cancer and the changing of endpoints from tumor reduction to overall survival seem to be the three key elements for the development of the therapeutic cancer vaccines. Therapeutic cancer vaccine therapy has undergone wide clinical trials for urological cancer, and it is expected to become the fourth therapeutic method following surgery, radiotherapy and chemotherapy.

近年、がんワクチン領域は急速な進展がみられており、臨床効果と免疫反応性の相関を認めた報告が続々となされている。最近のがんワクチン療法の現況では、子宮頸がん予防ワクチンの承認が最も注目される。また Oncophage (熱ショック蛋白-ペプチド複合体) が 2008 年ロシアで一部の腎臓がんに対して承認された。しかしながら、現時点において日本、米国において承認されたがんワクチン療法はいまだ存在しない。ペプチドや樹状細胞を用いた臨床試験結果は、ペプチド特異的な免疫マーカーにそった臨床効果を示すようになってきている。

患者個々に応じたペプチド選択や抗がん剤との併用、ならびに生存率をエンドポイントとした臨床試験が今後のがんワクチン療法開発のキーポイントになると考えられる。泌尿器がんにおいても種々のがんワクチン臨床試験が実施されており、手術、放射線治療、抗がん剤治療につぐ第4の治療として期待されている。

Masanori Noguchi*

key words : urological cancer; peptide vaccination

がん免疫療法は非特異的ながん免疫療法と抗原特異的ながん免疫療法に大きく二つに分類される。非特異的ながん免疫療法は、キノコ成分や細菌製剤を用いた免疫賦活療法、サイトカイン療法、および自己免疫担当細胞を体外にてインターロイキン(IL)-2などで増殖させてから投与する養子免疫療法(細胞療法)である。

また、抗原特異的ながん免疫療法は、受動特異免疫療法(抗体療法)と能動特異免疫療法(ワクチン療法)に分類される。1991年にBoonら¹⁾により免疫系が認識できる「がん抗原ペプチド」が発見され、急速

に幅広い臨床研究が開始され、特異免疫療法が主体になりつつある。

がんワクチン療法は、泌尿器がんに対しても臨床応用され、医薬品化へ向けた開発がなされている。手術療法、放射線療法、化学療法につづく第4の治療方法として期待されている。しかし、現時点ではがん治療薬として承認されているがんワクチンはなく今後の実用化が待望されている。

本稿では、これまで臨床研究が行われているがんワクチン療法について述べ、久留米大学で研究開発中のがんペプチドワクチン療法の開発経緯、克服すべき課題、展望について概説する。

* Division of Clinical Research, Innovative Research Center for Cancer Treatment and Departments of Urology, Kurume University School of Medicine 久留米大学先端癌治療研究センター臨床研究部門、久留米大学医学部泌尿器科学教室

腫瘍細胞ワクチン

自己腫瘍細胞を用いたがんワクチン療法の臨床研究は種々のがんにおいて以前より行われており、これらの初期臨床試験で効果を認めたもののうちいくつかは、第Ⅲ相臨床試験まで進んだものもある²⁻⁵⁾。一つの臨床試験を除いてほかはすべて腫瘍細胞ワクチン療法の有効性を示すことができなかった。唯一、有効性を示した報告は、腎細胞がんに対する腎摘出後に自己腫瘍細胞を用いてのワクチン群とコントロール群との無増悪期間をエンドポイントとした比較試験で、5年間の無増悪率がワクチン群(n = 177)が77.4%とコントロール群での67.8%に比較して良好という報告であった⁴⁾。しかしながら、同様の比較試験では、まったく差を認めなかったとの報告もある。

前立腺がんに対しては、培養がん細胞株であるLNCaPとPC-3を含む腫瘍細胞ワクチンであるGVAXの二つの無作為第Ⅲ相臨床試験が行われたがいずれも中断を余儀なくされた。一つは、有症状の転移性前立腺がんを対象にGVAXにドセタキセルを併用した群とドセタキセルにプレドニゾンを併用した群との比較試験であるが、この臨床試験は対照群に比してGVAX併用群の死亡率の高さより中止となっている⁶⁾。残りの無症状の転移性前立腺がんを対象としたGVAX投与群とドセタキセルにプレドニゾン投与群との比較試験であるが有効性が期待しがたいという理由で中止された⁶⁾。

このような腫瘍細胞ワクチンの失望される結果の原因の一つは、腫瘍細胞そのものの抗原の多さが不適切な免疫誘導をきたし、ある抗原に対しては免疫抑制に働いている可能性があるためと思われる。

熱ショック蛋白

最初の自己熱ショック蛋白(HSP, heat shock protein)を用いての臨床試験は、Oncophage(HSP-peptide complex 96, HSPPC-96; Antigenics社, Levington, MA, USA)であった。その後、HSPワクチンは、種々のがん患者に試みられたが、良好な臨床効果を得ることができなかった⁷⁾。しかしながら、

転移性腎細胞がん患者に対する第Ⅱ相試験で、61例中21例のOncophage投与群が18週という良好な無増悪期間を示し、第Ⅲ相試験が試みられた。その結果は、全生存期間には差はないものの、より早期のがん患者においてOncophage投与群が45%の無再発期間の延長を認める結果であった⁸⁾。

2008年5月には、ロシアにおいてOncophageは、再発中リスク腎細胞がん患者治療薬として承認されている。しかしながら、HSP-basedワクチンの臨床効果に関してはさまざまな否定的意見も多く⁷⁾、腎細胞がんやほかのがん腫に用いるには、さらなる臨床試験が必要と思われる。

樹状細胞を用いたペプチドワクチン療法

抗原提示細胞(APC: antigen presenting cell)である樹状細胞(DC: dendritic cell)を患者の体外で前立腺酸性フォスファターゼ(PAP)、前立腺特異的抗原(PSA)あるいは前立腺特異的膜抗原(PSMA)ペプチドなどで刺激してもどすDC-basedワクチン療法も行われている^{9,10)}。

Dendreon社(Seattle, USA)の再燃前立腺がんを対象としたDC-basedワクチン療法の第Ⅲ相臨床試験では、PAPと顆粒球単球コロニー刺激因子(GM-CSF)で刺激したDCを輸注した群の生存率中央値(MST)が25.9カ月であり、プラセボ投与群のMSTは21.4カ月という良好な結果であった¹¹⁾。現在、FDAの認可が期待できる最初の細胞療法として追加の臨床試験が行われている。

これらの結果より、DC-basedワクチン療法は期待される再燃前立腺がん治療の一つではあるものの、信頼できるバイオマーカーがないことや、ワクチンの標準化が困難、煩雑なプロトコル、時間やコストがかかる等の日常診療に用いるには解決すべき障害が多い。

テラーメイド型ペプチドワクチン療法

泌尿器科領域の疾患に対する久留米大学におけるペプチドワクチン療法の現況を報告する。久留米大学グループは、末梢血リンパ球を用いてペプチド特

異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を測定する新技法やペプチド抗体測定法の開発に着手し、そのいずれも高感度測定法を新規に樹立した¹²⁾。

この新技法を用いて、ワクチン投与症例の末梢血リンパ球における特異的 CTL の誘導や変動の有無のモニタリングが可能となった¹³⁾。このモニタリング法は、従来の CTL 前駆体算定法や標識テトラマー法に比して、簡便性と普及性について多くの利点を有する。また、cDNA 発現クローニング法を用いてヒトがん関連抗原遺伝子が同定可能となり予想をはるかに超えるほどの抗原やペプチドが同定され、ペプチドワクチンの探索的臨床研究 (以下 TR と略す) が世界中で実施されてきた。しかし、臨床研究成果は芳しくなく有効例がほとんど得られなかった¹³⁾。

そこで筆者らはいくつかの新しいプロトコルを TR として試みた。まず、第一に、投与前末梢血中のペプチド特異的 CTL 前駆体の検出および、投与前血漿中のペプチド特異抗体の測定を実施して、反応陽性のペプチドを上位 4 種類まで選択して投与するプロトコルとした (テラーメイド型ペプチドワクチン) (カラー 1, 2)。これはリンパ節での CTL 賦活化効率を上げるために役立つものと予想をされる。実際に、非テラーメイド型投与に比して、早期にかつ強い免疫賦活が大多数 (70~90%) の症例で認められるにいたった^{14~27)}。一方、上記のテラーメイドペプチドワクチンの有害事象は投与部位の炎症反応が主体であり、重篤な副作用は認められなかった。

さらに最近、筆者らはヒト白血球抗原 (HLA)-A11, -A26, -A31, -A33 陽性患者に適応可能なペプチドワクチンを開発した。日本人のほぼ 100% が HLA-A2, -A11, -A24, -A26, -A31, -A33 のいずれかを有していることから、これらのペプチドを用いることにより、汎 HLA 型に対応したペプチドワクチンが可能となった。つぎに各種泌尿器がんにおける臨床試験結果について述べる。

1. 前立腺がん

前立腺がん患者が最も症例を重ねている。個々人に適切なペプチド選択を活用したペプチドワクチン

では、その安全性および高い免疫賦活率が立証できた^{28,29)}。臨床効果を認める症例もあり、また生命予後延長も期待されるが、ワクチン単独投与では臨床効果の程度は弱いことが判明した。そこで、臨床効果をあげる目的に、ペプチドワクチンと低用量エストラムスチン併用治療を施行し、その安全性および高い免疫賦活率が立証できた。さらに臨床効果がみられる症例 (図 1) もあり、また生命予後延長も期待された^{30~32)}。

前立腺がん根治手術を受ける前の症例を対象として個々人に適切なペプチド選択を活用したペプチドワクチン投与の第 II 相臨床試験を実施して、安全性、および免疫反応性を解析した。その結果、がん局所に 2 次免疫を担当する活性化リンパ球である CD45RO 陽性細胞が、非ワクチン投与群に比して優位な浸潤が認められた。これらより、この技術を活用したペプチドワクチンはがん局所において 2 次免疫を賦活化することが示唆された³³⁾。

現在、この低用量エストラムスチンとの併用療法がエストラムスチン単独療法に比較して良好な治療成績を示すかを検証すべく第 II 相無作為比較試験を施行した。その結果では、ペプチドワクチン療法と低用量エストラムスチン併用療法の無増悪生存期間 (progression-free survival : PFS) 中央値が 8.5 カ月とエストラムスチン単独療法の 2.8 カ月に比較して優位に良好 ($p=0.0012$: Hazard Ratio 0.28) であった (図 2a)。全生存率においてもペプチドワクチン療法と低用量エストラムスチン併用療法の予後が良好 ($p=0.0328$: Hazard Ratio 0.303) であった (図 2b)³⁴⁾。

2. 腎細胞がん

腎細胞がん樹立細胞株を用いてペプチドの発現を逆転写ポリメラーゼ連鎖反応 (RT-PCR) にて確認した。つぎに、HLA-A24 陽性の腎細胞がん患者の末梢血単細胞からペプチドにて刺激し、特異的なキラー T 細胞が誘導できることを証明した³⁵⁾。これらの基礎実験の結果に基づき、臨床試験を施行した。

徳島大学、北海道大学、久留米大学との共同研究により標準治療抵抗性腎臓がん症例 10 例を対象とした臨床試験が施行された。その結果、重篤な有害

カラー1 テーラーメイドペプチドワクチンにおける血液スクリーニング

カラー2 Lumindex による抗ペプチド抗体 (IgG) 測定

図1 後腹膜リンパ節転移縮小症例(74歳, 男性, 再燃前立腺がん)

a: ワクチン投与前. b: ワクチン投与後2年

図2 ペプチドワクチン + 低用量エストラムスチン対常用量エストラムスチン比較試験

a: 無病増悪期間. b: 生存期間

事象は1例も認めず, 免疫反応の増強を80%の患者に認め, その安全性および高い免疫賦活率が立証できた. さらには, 全生存は平均23カ月と生命予後延長も期待された. がんペプチドワクチン療法にサイトカイン療法を併用した症例においても, 免疫反応抑制は認められなかった³⁶⁾.

分子標的治療剤が腎細胞がんに適応となり, 進行性腎細胞がんに対する治療選択肢が広がっている. しかし, 分子標的治療剤の殺細胞効果は期待できるものの, さまざまな有害事象の出現により継続困難なこともしばしば遭遇する. 今後は, 長期予後の改善のためにがんペプチドワクチンと分子標的治療剤との併用も検討すべきと思われる.

3. 尿路上皮がん

尿路上皮がんにおいても, 樹立細胞株を用いて mRNA レベルでのペプチドの発現を確認した. また, 膀胱がん患者の末梢血単細胞からペプチド刺激により特異的なキラーT細胞が誘導できることを

基礎実験にて確認した³⁷⁾。

現在、臨床試験は on-going 中であり、そのなかには放射線療法、抗がん剤化学療法との集学的治療により complete response を 1 例に認めたとの症例報告が北里大学よりある。

がんワクチンの克服すべき課題

がん細胞はさまざまな方法で免疫監視機構から逃れる。がん免疫系が正常にもかかわらず、生体は何故がん細胞を完全に排除できないのかというと、がん細胞側に免疫からの逃避機構があるためである。がん抗原の脱落、HLA の消失、接着分子の消失、免疫抑制因子の産生などがよく知られている。

したがって免疫療法単独では治療開始当初は有効であるかもしれないが、逃避できるがん細胞が増加することにより無効になることが多い。さらに、がん細胞は免疫療法からの逃避に限らず、薬剤耐性遺伝子発現などによる抗がん剤治療からの逃避や、ホルモン受容体消失によるホルモン療法から逃避することがよく知られている。その典型例は前立腺がんといえる。前立腺がんでは免疫抵抗性(HLA クラス I 抗原消失もしくは発現低下)のがん細胞が根治手術時にすでに 50% 以上存在する。また、多数のホルモンレセプター消失のがん細胞、および抗がん剤抵抗性のがん細胞が存在する。ただし、個々の抵抗性は重複しない場合が多い³⁸⁾。

これらより前立腺がんに対して臨床効果をあげるためにはワクチン療法、ホルモン治療、および抗がん剤治療の併用が有効とされる³²⁾。このコンセプトは前立腺がんに限らずほかのがん種でも同様と思われる、さらなる検証が必要である。

文 献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, Lurquin C, Boon T et al. : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254 : 1643-1647, 1991.
- 2) Harris JE, Ryan L, Hoover HC Jr, Stuart RK, Oken MM et al. : Adjuvant active specific immunotherapy for stage II and III colon cancer with an autologous tumor cell vaccine : Eastern Cooperative Oncology Group Study E5283. *J Clin Oncol* 18 : 148-157, 2000.
- 3) Vermorken JB, Claessen AM, van Tinteren H, Gall HE, Ezinga R et al. : Active specific immunotherapy for stage II

- and stage III human colon cancer : a randomised trial. *Lancet* 353 : 345-350, 1999.
- 4) Jocham D, Richter A, Hoffmann L, Iwig K, Fahlenkamp D et al. : Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy : phase III, randomised controlled trial. *Lancet* 363 : 594-599, 2004.
- 5) Finke LH, Wentworth K, Blumenstein B, Rudolph NS, Levitsky H et al. : Lessons from randomized phase III studies with active cancer immunotherapies--outcomes from the 2006 meeting of the Cancer Vaccine Consortium (CVC). *Vaccine* 25 : B97-B109, 2007.
- 6) website : <http://www.drugs.com/news/cell-genesys-halts-vital-2-gvax-trial-advanced-prostate-cancer-13371.html>
- 7) de Gruijl TD, van den Eertwegh AJ, Pinedo HM, Scheper RJ : Whole-cell cancer vaccination : from autologous to allogeneic tumor- and dendritic cell-based vaccines. *Cancer Immunol Immunother* 57 : 1569-1577, 2008.
- 8) Wood C, Srivastava P, Bukowski R, Lacombe L, Gorelov AI et al. : An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSP-PC-96 : vitespen) versus observation alone for patients at high risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma : a multicentre, open-label, randomised phase III trial. *Lancet* 372 : 145-154, 2008.
- 9) Fong L, Brockstedt D, Benike C, Breen JK, Strang G et al. : Dendritic cell-based xenoantigen vaccination for prostate cancer immunotherapy. *J Immunol* 167 : 7150-7156, 2001.
- 10) Barrou B, Benoît G, Ouldaci M, Cussenot O, Salcedo M et al. : Vaccination of prostatectomized prostate cancer patients in biochemical relapse, with autologous dendritic cells pulsed with recombinant human PSA. *Cancer Immunol Immunother* 53 : 453-460, 2004.
- 11) Small EJ, Schellhammer PF, Higano CS, Redfern CH, Nemunaitis JJ et al. : Placebo-controlled phase III trial of immunologic therapy with sipuleucel-T (APC8015) in patients with metastatic, asymptomatic hormone refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 24 : 3089-3094, 2006.
- 12) Komatsu N, Shichijo S, Nakagawa M, Itoh K : New multiplexed flow cytometric assay to measure anti-peptide antibody : a novel tool for monitoring immune responses to peptides used for immunization. *Scand J Clin Lab Invest* 64 : 535-546, 2004.
- 13) Mine T, Sato Y, Noguchi M, Sasatomi T, Gouhara R et al. : Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing, peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res* 10 : 929-937, 2004.
- 14) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP : Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. *Nature Medicine* 10 : 909-915, 2004.
- 15) Yajima N, Yamanaka R, Mine T, Tsuchiya N, Homma J et al. : Immunologic evaluation of personalized peptide vaccination for patients with advanced malignant glioma. *Clin Cancer Res* 11 : 5900-5911, 2005.
- 16) Tsuda N, Mochizuki K, Harada M, Sukehiro A, Kawano K et al. : Vaccination with predesignated or evidence-based peptides for patients with recurrent gynecologic cancers. *J Immunother* 27 : 60-72, 2004.
- 17) Mochizuki K, Sato Y, Tsuda N, Shomura H, Sakamoto M et al. : Immunological evaluation of vaccination with pre-designated peptides frequently selected as vaccine candidates in an individualized peptide vaccination regimen. *Int J Oncol* 25 : 121-131, 2004.
- 18) Itoh K, Yamada A : Personalized peptide vaccines : A new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* 97 : 970-976, 2006.
- 19) Gohara R, Imai N, Rikimaru T, Yamada A, Hida N et al. :

- Phase I clinical study of cyclophilinB peptide vaccine for lung cancer patients. *J Immunother* 25 : 439-444, 2002.
- 20) Mine T, Gouhara R, Hida N, Imai N, Azuma K et al. : Immunological evaluation of CTL precursor-oriented vaccines for advanced lung cancer patients. *Cancer Sci* 94 : 548-556, 2003.
 - 21) Tanaka S, Harada M, Mine T, Noguchi M, Gohara R et al. : Peptide vaccination for patients with melanoma and other types of cancer based on pre-existing peptide-specific cytotoxic T-lymphocyte precursors in the periphery. *J Immunother* 26 : 357-366, 2003.
 - 22) Sato Y, Shomura H, Maeda Y, Mine T, Une Y et al. : Immunological evaluation of peptide vaccination for patients with gastric cancer based on pre-existing cellular response to peptide. *Cancer Sci* 94 : 802-808, 2003.
 - 23) Sato Y, Maeda Y, Shomura H, Sasatomi T, Takahashi M et al. : A phase I trial of cytotoxic T-lymphocyte precursor-oriented peptide vaccines for colorectal carcinoma patients. *Br J Cancer* 90 : 1334-1342, 2004.
 - 24) Sato Y, Fujiwara T, Mine T, Shomura H, Homma S et al. : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with a 5-fluorouracil derivative (TS-1) for advanced gastric or colorectal carcinoma patients. *Cancer Sci* 98 : 1113-1119, 2007.
 - 25) Yamamoto K, Mine T, Katagiri K, Suzuki N, Kawaoka T et al. : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination for patients with pancreatic cancer. *Oncol Rep* 13 : 875-883, 2005.
 - 26) Yanagimoto H, Mine T, Yamamoto K, Satoi S, Terakawa N et al. : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination with gemcitabine for pancreatic cancer. *Cancer Sci* 98 : 605-611, 2007.
 - 27) Takedatsu H, Yoshimoto K, Okamura T, Yakushiji K, Imamura R et al. : Immunological evaluation of vaccination of peptides derived from epithelial cancer-related antigens in two patients with hematological malignancy. *Int J Oncol* 26 : 1605-1612, 2005.
 - 28) Noguchi M, Kobayashi K, Suetsugu N, Tomiyasu K, Suekane S et al. : 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* 57 : 80-92, 2003.
 - 29) Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Yao A, Suetsugu N et al. : Phase I trial of patient-oriented vaccination in HLA-A2-positive patients with metastatic hormone-refractory prostate cancer. *Cancer Sci* 95 : 77-84, 2004.
 - 30) Noguchi M, Itoh K, Suekane S, Morinaga A, Sukehiro A et al. : Immunological monitoring during combination of patient-oriented peptide vaccination and estramustine phosphate in patients with metastatic hormone refractory prostate cancer. *Prostate* 60 : 32-45, 2004.
 - 31) Noguchi M, Itoh K, Yao A, Mine T, Yamada A et al. : Immunological evaluation of individualized peptide vaccination with a low dose of estramustine for HLA-A24 + HRPC patients. *Prostate* 63 : 1-12, 2005.
 - 32) Noguchi M, Mine T, Yamada A, Obata Y, Yoshida K et al. : Combination therapy of personalized peptide vaccination with low-dose estramustine phosphate for metastatic hormone refractory prostate cancer patients : an analysis of prognostic factors in the treatment. *Oncol Res* 16 : 341-349, 2007.
 - 33) Noguchi M, Yao A, Harada M, Nakashima O, Komohara Y et al. : Immunological evaluation of neoadjuvant peptide vaccination before radical prostatectomy for patients with localized prostate cancer. *Prostate* 67 : 933-942, 2007.
 - 34) Noguchi M et al. : A randomized trial of personalized peptide vaccine (PPV) plus low-dose estramustine (EMP) versus full-dose EMP in patients with hormone-refractory prostate cancer. *J Clin Oncol* 27 : 15s 130 (abstract), 2009.
 - 35) Komohara Y, Harada M, Arima Y, Suekane S, Noguchi M et al. : Identification of target antigens in specific immunotherapy for renal cell carcinoma. *J Urol* 177 : 1157-1162, 2007.
 - 36) Suekane S, Nishitani M, Noguchi M, Komohara Y, Kokubu T et al. : Phase I trial of personalized peptide vaccination for cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma patients. *Cancer Sci* 98 : 1965-1968, 2007.
 - 37) Komohara Y, Harada M, Arima Y, Suekane S, Noguchi M et al. : Anti-cancer vaccine candidates in specific immunotherapy for bladder carcinoma. *Int J Oncol* 29 : 1555-1560, 2006.
 - 38) Homma S, Komohara Y, Harada M, Saya H, Todo S et al. : Differential levels of human leukocyte antigen-class I, multidrug-resistance 1 and androgen receptor expressions in untreated prostate cancer cells : the robustness of prostate cancer. *Oncol Rep* 18 : 343-346, 2007.