

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 16 日現在

機関番号：24701

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24791390

研究課題名(和文) 食道癌に対する新規アジュバントHVJ-E併用癌ワクチン療法の開発

研究課題名(英文) Investigation of cancer vaccine therapy with novel immune-adjuvant for the patient with esophageal cancer

研究代表者

勝田 将裕 (katsuda, masahiro)

和歌山県立医科大学・医学部・助教

研究者番号：50464673

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,900,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、癌患者に対するワクチン療法に有用な新規アジュバントの候補の一つとして、RIG-I/TLR-8を共刺激するHVJ-Eの癌ペプチドワクチンアジュバントとしての有用性を探索した。HVJ-Eにより樹状細胞は成熟活性化し、炎症性サイトカインの産生を誘導することが明らかとなった。一方で、これらのサイトカインを全身性に産生することは、むしろ抗腫瘍免疫応答を阻害することが示唆された。さらに、標準療法不応食道癌に対するペプチドワクチンの新規臨床研究を開始した。これまでに22例が登録され、これらの症例の免疫学的評価により、有用な新規アジュバントを併用したがんワクチン臨床試験の可能性を探索し準備を開始した。

研究成果の概要(英文)：We have developed new adjuvants useful in vaccine therapy for cancer patients, and we searched the usefulness of HVJ-E, which co-stimulate the RIG-I / TLR-8, as one of the candidates for an adjuvant to enhance the effect of cancer peptide vaccine. It was revealed that the HVJ-E induced the production of inflammatory cytokines such as IL-17, IFN, IL-6 and TNF through the maturation and activation of dendritic cells. On the other hand, producing these cytokines in the systemic was suggested to inhibit the anti-tumor immune responses. In addition, we have started a new clinical study of peptides vaccine for the patients of esophageal cancer. So far, 22 patients were enrolled and we have started immunologic assessment of peptide-specific activated CTL (ELISPOT testing, multimer assay). By storing this new but basic data, we are preparing to initiate a next clinical study of cancer peptides vaccine in combination with a novel immune adjuvant.

研究分野：消化器外科学

キーワード：がんワクチン アジュバント 食道癌

1. 研究開始当初の背景

癌患者に対するワクチン療法はこれまで多くのアプローチが試みられてきたが、未だ臨床的有効性を示す明確な evidence は得られていない。現状を打破するためには強い免疫原性を有した抗原遺伝子の選定と共に、癌患者の生体内における抗腫瘍免疫応答を増強して癌細胞周囲の microenvironment における抗腫瘍免疫エスケープメカニズムを打破する強力な adjuvant の選択が重要である。我々は、消化器癌を対象として腫瘍抗原の同定とそれに続く臨床研究を行ってきた。とくに、自然免疫系の細胞が微生物に特有のパターン分子 (PAMPs) を認識して活性化することが獲得免疫系の活性化においても必須であることが明らかとなり、このパターン認識受容体 (PRRs) として Toll-like receptor (TLR) が同定された。そこで、新規ワクチンアジュバントとして TLR-9 のリガンドである CpG-ODNs に注目し、基礎的検討により癌ワクチンアジュバントとしての有効性が期待されたことから、我々は CpG-B をワクチンアジュバントとして併用した食道癌に対する新規癌抗原ペプチドワクチン療法の臨床研究を行った (Iwahashi M, et al. *Cancer sci*, 2010) さらに、基礎研究にて CpG-A が大量の IFN- α 産生を介して CpG-B を上回るアジュバント効果が誘導されたことから (Katsuda M, et al. *Int J Oncol*, 2011)、CpG-A をアジュバントとした癌ワクチン臨床開発の可能性を検討している。以上のように、CpG-ODNs は有望なワクチンアジュバントの候補であるが、獲得免疫の誘導に重要な働きを持つ樹状細胞 (DC) の中で、plasmacytoid DCs (pDCs) は TLR-9 を特異的に発現して CpG-ODNs の刺激により大量の IFN- α を産生するのに対して、より抗原提示に重要な働きを果たしていると考えられる conventional DCs (cDCs) では、TLR-9 の発現を認めず、CpG-ODNs の cDC に対する直接作用は認められない。近年、TLR 以外の PRRs が同定され、新たな自然免疫系活性化メカニズムが明らかとなってきた。中でも細胞質に存在する PRRs である Retinoic acid inducible gene-I (RIG-I) は cDCs や線維芽細胞に発現し、5'末端に三リン酸構造をもつ ssRNA や短い dsRNA などを認識して、その IFN 産生において中心的な働きを担っていることが明らかとなった (Hornung V, et al. *Science*, 2006)。一本鎖 RNA ウイルスであるセグダイウイルス (SeV) は、この RIG-I の刺激を介して cDC の成熟化および cDC からの IFN 産生を誘導することが報告されている (Kato H, *Immunity*, 2005)。さらに、SeV は TLR-8 の刺激を介して pDC から大量の II 型 IFN 産生を誘導することが知られている。我々はこれまでに、Th1 免疫環境下における mature cDC が獲得免疫の誘導においてきわめて重要な働きをしていることも明らかにし

(Ojima T, et al. *Int J Oncol*, 2008)、さらに、ヒト in vitro において CpG-ODNs の刺激により pDC から誘導された IFN- γ が癌抗原ペプチドワクチン特異的 CTL の誘導、増殖、細胞障害活性増強をもたらすことを明らかにしてきた (科研費課題番号 21791259)。従って、RIG-I/TLR-8 刺激により cDC および pDC をともに活性化する SeV は、癌ワクチンの強力なアジュバントとなりうる。今回我々は、臨床応用を念頭に置き SeV を紫外線にて不活化した粒子である Hemagglutinating virus of Japan envelope (HVJ-E) に注目した。HVJ-E は SeV と同様に RIG-I 刺激により cDC を成熟化するとともに IFN 産生を誘導し、さらに TLR-8 刺激により pDC から大量の IFN- γ の産生が期待される。又、SeV と異なり自己複製能が無いため安全に臨床応用が可能であることから、HVJ-E は adjuvant としては実際的であり、これを使用することにより強い免疫応答を惹起できると考えられる。これまでに mouse を用いた検討で、HVJ-E ががん抗原特異的な抗腫瘍獲得免疫を誘導することが報告されている (Kurooka M, *Cancer Res*, 2007) 一方で、ヒトと mouse では TLR や RIG-I の発現パターンは異なり、mouse の結果をそのままヒトにあてはめることはできない。HVJ-E がヒト癌ペプチドワクチンのアジュバントとして有用であることを示した報告はなく、この研究を進めることで、現在我々が研究を進めている食道癌ペプチドワクチンの有望な新規アジュバントの開発が期待される。

2. 研究の目的

- 1) HVJ-E を含む新規がんワクチンアジュバントの開発に関する基礎的検討を行う。
- 2) 食道癌患者に対する新規がんワクチン臨床試験を遂行する。
- 3) 食道癌患者に対する新規がんワクチンを併用した新規がんワクチン臨床試験の可能性を探索し準備する。

最終目標は、新規の癌ペプチドワクチンアジュバントを開発して有用性を明らかにし、さを食道癌患者における癌ペプチドワクチン療法のワクチンアジュバントとして臨床応用することである。

3. 研究の方法

HVJ-E を含む免疫アジュバントが自然免疫を活性化するメカニズムの解析を行う。続いて、ヒト癌細胞由来ペプチドワクチン特異的 CTL 誘導において免疫アジュバントを添加して CTL の解析を行いアジュバントとしての有用性を検討する。さらに、食道癌患者におけるがんペプチドワクチンの臨床研究を開始し、免疫学的解析を行うことで免疫アジュバントを併用した時期臨床研究の基礎的データを集積する。

4. 研究成果

1) RIG-I/TLR8 を共刺激する HVJ-E が IFN、IL-6、TNF、IL-17 といった炎症性サイトカインおよび炎症性ケモカインの産生を誘導することが明らかとなった。一方で、これらのサイトカインを全身性に産生することは、むしろ抗腫瘍免疫応答を阻害することがあることが明らかとなった。腫瘍局所における局所免疫環境を制御するストラテジーが重要である。今後は、免疫アジュバントの腫瘍局所での免疫動態を解析する予定である。

2) 食道癌に対するペプチドワクチンの新規臨床研究を開始した。本臨床研究では、標準療法 (5-FU、CDDP、DOC を含む治療) に対して不応又は不耐の HLA-A24 または HLA-A02 陽性の進行・再発食道癌患者を対象として、試験薬 URLC10・KIF20A・VEGFR-1・VEGFR-2 由来ペプチドカクテルの安全性を確認したうえで、探索的に有効性を評価している。これまでに 22 例が登録されたが、投与前後の末梢血単核球を保存しており、今後この血球を用いて、免疫学的評価；ペプチド特異的活性化 CTL (ELISPOT 検査, multimer 検査) を行う予定であり、免疫アジュバントを併用する臨床研究を開始する基礎的データが蓄積される。また、本臨床研究における臨床効果と免疫学的評価を比較検討し、新規アジュバントを併用した新規がんワクチン臨床試験の可能性を探索し準備する。

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7件)

1. Katsuda M, Yamaue H: Present and future status of therapeutic cancer peptide vaccine therapy for patients with pancreatic cancer. *Nihon Rinsho* 73 Suppl 3:433-7,2015, 査読無し
2. Yoshimura S, Tsunoda T, Osawa R, Harada M, Watanabe T, Hikichi T, Katsuda M, Miyazawa M, Tani M, Iwahashi M, Takeda K, Katagiri T, Nakamura Y, Yamaue H: Identification of an HLA-A2-restricted epitope peptide derived from hypoxia-inducible protein 2 (HIG2). *PLoS One* 9(1):e85267, 2014, 査読有り
3. Iida T, Iwahashi M, Katsuda M, Ishida K, Nakamori M, Nakamura M, Naka T, Ojima T, Ueda K, Hayata K, Yasuoka H, Yamaue H: Prognostic significance of IL-17 mRNA expression in peritoneal

lavage in gastric cancer patients who underwent curative resection. *Oncol Rep* 31(2):605-12, 2014, 査読有り

4. Iwamoto H, Ojima T, Hayata K, Katsuda M, Miyazawa M, Iida T, Nakamura M, Nakamori M, Iwahashi M, Yamaue H: Antitumor immune response of dendritic cells (DCs) expressing tumor-associated antigens derived from induced pluripotent stem cells: in comparison to bone marrow-derived DCs. *Int J Cancer* 134(2):332-41, 2014, 査読有り
 5. Iwamoto H, Ojima T, Nakamori M, Nakamura M, Hayata K, Katsuda M, Iida T, Miyazawa M, Iwahashi M, Yamaue H: Cancer vaccine therapy using genetically modified induced pluripotent stem cell-derived dendritic cells expressing the TAA gene. *Gan To Kagaku Ryoh* 40(12):1575-7, 2013, 査読無し
 6. Hayata K, Iwahashi M, Ojima T, Katsuda M, Iida T, Nakamori M, Ueda K, Nakamura M, Miyazawa M, Tsuji T, Yamaue H: Inhibition of IL-17A in Tumor Microenvironment Augments Cytotoxicity of Tumor-Infiltrating Lymphocytes in Tumor-Bearing Mice. *PLoS One* 8(1):e53131, 2013, 査読有り
 7. Tsuji T, Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Ojima T, Iida T, Katsuda M, Hayata K, Ino Y, Todo T, Yamaue H: An armed oncolytic herpes simplex virus expressing thrombospondin-1 has an enhanced in vivo antitumor effect against human gastric cancer. *Int J Cancer* 132(2):485-94, 2013, 査読有り
- [学会発表](計15件)
1. 勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、水本有紀、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、早田啓治、松村修一、北谷純也、山上裕機: 進行食道癌に対する HLAA24/A02 拘束性新規エピートープペプチドを用いた臨床研究. 第36回癌免疫外科研究会、奄美、2015.5
 2. 勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、水本有紀、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、早田啓治、松村修一、北谷純也、山上裕機: 標準療法不応食道癌に対する HLA-A24 または HLA-A02 拘束性カクテルペプチドワ

- クチン療法-第 / 相臨床試験- 第 27 回日本バイオセラピー学会学術集会、大阪、2014.12
3. 勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、水本有紀、山上裕機：当科における消化器癌に対するがんペプチドワクチン療法開発。第 3 回イノベティブセルセラピー研究会、東京、2014.12
 4. 勝田将裕、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、早田啓治、松村修一、北畑裕司、水本有紀、山上裕機：標準療法不応食道癌に対する HLA-A24 または HLA-A02 拘束性マルチペプチドワクチン療法。第 52 回日本癌治療学会学術集会、横浜、2014.8
 5. 勝田将裕、宮澤基樹、谷 眞至、中森幹人、中村公紀、川井 学、尾島敏康、北畑裕司、岩橋 誠、山上裕機：消化器癌に対するがんペプチドワクチン療法開発の課題と展望。第 69 回日本消化器外科学会総会、郡山、2014.7
 6. 勝田将裕、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、北畑裕司、水本有紀、山上裕機：標準療法不応食道癌に対する HLA-A24 または HLA-A02 拘束性マルチエピトープペプチドを用いたカクテルワクチン療法 - 第 I / II 相臨床試験 - 。第 35 回癌免疫外科研究会、大阪、2014.5
 7. 勝田将裕、宮澤基樹、北畑裕司、水本有紀、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、早田啓治、松村修一、北谷純也、山上裕機：HLA-A02/24 の標準療法不応進行再発食道癌患者に対する新規がんペプチドワクチン臨床試験。第 115 回日本外科学会学術集会、名古屋、2014.4
 8. 勝田将裕、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、北畑裕司、山上裕機：標準療法不応・不耐の進行胃癌に対する標準療法不応胃癌に対するペプチドワクチン療法の医師主導国際共同治験。第 26 回日本バイオセラピー学会学術集会、岩手、2013.12
 9. 勝田将裕、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、松村修一、加藤智也、岩橋 誠、山上裕機：進行食道癌に対する CpG7909 併用がんペプチドワクチン療法の第 I・II 相臨床試験。第 67 回日本食道学会総会、大阪、2013.6
 10. 勝田将裕、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、北畑裕、Wei Peng Yong、Sun Young Rha、山上裕機：標準療法不応進行胃癌に対する新規ペプチドワクチン療法の医師主導国際共同治験。第 34 回癌免疫外科研究会、岡山、2013.5
 11. 勝田将裕、岩橋 誠、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、宮澤基樹、北畑裕司、山上裕機：進行食道がんに対する TLR-9 agonist 併用ペプチ

- ドワクチン療法の第 / 相臨床試験。第 25 回日本バイオセラピー学会学術集会、倉敷、2012.12
12. 勝田将裕、岩橋 誠、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、松村修一、加藤智也、宮澤基樹、山上裕機：進行再発食道癌に対する CpG-B 併用ペプチドワクチン療法。第 50 回日本癌治療学会学術総会、横浜、2012.10
 13. 勝田 将裕、岩橋 誠、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、岩本博光、山上裕機：A phase / trial using epitope peptides in combination with CpG-7909 for patients with advanced esophageal carcinoma. 第 71 回日本癌学会総会、北海道、2012.9
 14. 勝田将裕、岩橋 誠、宮澤基樹、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、早田啓治、北畑裕司、山上裕機：進行食道癌に対する CpG-B 併用新規癌精巢抗原由来ペプチドワクチン療法。第 16 回日本がん免疫学会総会、北海道、2012.7
 15. 勝田将裕、岩橋 誠、中森幹人、中村公紀、尾島敏康、飯田 武、辻 俊明、早田啓治、松村修一、山上裕機：進行食道癌に対する CpG-B 併用新規癌精巢抗原由来ペプチドワクチン療法 - 第 相臨床試験中間報告 - 。第 67 回日本消化器外科学会総会、富山、2012.7

〔図書〕(計 1 件)

1. 勝田将裕、山上裕機：がんペプチドワクチン療法開発の現状と展望。分子細胞治療フロンティア 2015 : 139-145, 2015

〔産業財産権〕
出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

勝田 将裕 (Katsuda Masahiro)
和歌山県立医科大学・医学部・助教
研究者番号：50464673

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：