

研究種目：基盤研究(A)

研究期間：2006～2009

課題番号：18209036

研究課題名(和文) 経皮ペプチド免疫療法によるヒトの悪性黒色腫治療

研究課題名(英文) Immunotherapy with percutaneous peptide immunization in human melanoma.

研究代表者

瀧川 雅浩 (TAKIGAWA MASAHIRO)

浜松医科大学・医学部・教授

研究者番号：80115873

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・皮膚科学

キーワード：悪性黒色種、経皮免疫療法、臨床試験、細胞障害性 T 細胞、ペプチド、ランゲルハンス細胞、角層剥離皮膚、ワクチン

1. 研究計画の概要

経皮ペプチド免疫療法 (PPI) は、角質層を剥離した皮膚にペプチドを貼付することによって強力な細胞障害性リンパ球 (CTL) 反応を誘導する簡便で非侵襲的な免疫アプローチである。我々は、角層バリア破壊後のヒトの皮膚では、表皮のランゲルハンス細胞は HLA と活性化分子の発現を増強して機能的に成熟し樹状突起の数を減らして遊走することを示した。さらに HLA クラス I 拘束性の抗原ペプチドをもちいた PPI により MHC-ペプチドテトラマー/ペンタマー陽性で IFN- γ 産生性の CD8+細胞が末梢血中に出現した。これらの結果をもとに PPI をヒト悪性黒色腫の治療に応用し、より効果的な手技手法の開発と治療条件の検討を行うことを目的とする。

2. 研究の進捗状況

本研究では HLA 検査で HLA-0201 および A24 のステージ IV メラノーマ患者に対して HLA-A02 では MART-1 ペプチド溶液、HLA-A24 では gp-100, tyrosinase, MAGE-2, MAGE-3 を使用する。角層剥離の 24 時間後に剥離皮膚表面に上記ペプチドを 24 時間塗布し、がんの進行状況に応じて、この操作を一月に 1 回、計 7 回行う。これまで第 III/IV 病期の悪性黒色腫患者 25 名に対し、臨床試験を行った。PPI 治療により多くの CTL が誘導された例は、腫瘍の縮小効果が顕著であった。第 III 病期であった 78 歳の女性例では、右下腿に多数の皮下結節を呈し、これがすべて悪性黒色腫の皮膚転移であったが、PPI 療法施行後 2 回目より、これらの皮下結節はすべて消

失していった。本患者の末梢血中のペプチド特異的 CTL をテトラマーを用いてフローサイトメーター解析すると、200～300 個/10000CD8 陽性細胞と多数認められた。また、PPI 施行中に皮下結節を採取し、その浸潤 T 細胞を調べると、浸潤細胞の 5%以上がペプチド特異的 CTL であった。患者プロファイルの偏りはあるが、従来の本施設における第 IV 病期 8 名とその予後を単純に比較すると、PPI 治療群の方に延命効果がみられた。また、PPI 治療の回数が 7 回以上である場合と 7 回未満とで比較すると、有意に 7 回以上免疫した群に延命効果がみられた (Kaplan-Meier 法, $p < 0.0001$)。内臓/骨転移群は、リンパ節にのみ転移がとどまる患者よりも予後が悪かった (Kaplan-Meier 法, $p = 0.0373$)。これらの結果より、PPI 治療は、第 III/IV 期の悪性黒色腫の近未来的治療のオプションと成りうる可能性を示唆させる。

3. 現在までの達成度

① 当初の計画以上に進展している。

(理由) 現在までの悪性黒色腫に対する免疫療法は、奏効率から将来性を絶望視されていたが、理論的背景の整合性と臨床的有用性を検証しえた本免疫療法は、画期的である。さらに、従来免疫療法と比較して、設備費用、手技の簡便性、患者に対する侵襲、副作用のすべてにおいて本法が優れることが判明した。これは、施設の規模を問わず、どんな医療施設においても本法を施行できうることを示唆するものであり、今後の本法の医療への展開において重要である。

4. 今後の研究の推進方策

本方法における5年生存率の改善効果は、高いとはいえ、より効率的な腫瘍特異的CTLの誘導を行うための工夫が必要である。ひとつは、ペプチドの投与量や部位(範囲)の問題、より効率よいCTL誘導を促すアジュバントの選択、CTL誘導に伴って誘導される制御性T細胞の抑制方法などが必要である。これらを含む種々の方法の組み合わせで、最適な方法を見出すことが必要と考えられる。

5. 代表的な研究成果

(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 6件)

- ① Yagi H., Seo N., Ohshima A.他6名 8番
目 : Chemokine receptor expression in cutaneous T cell and NK/T-cell lymphomas: Immunohistochemical staining and *in vitro* chemotactic assay. *Am J Surg Pathol* 有 30; 1111-1119, 2006.
- ② Yagi H., Hashizume H., Horibe T.他8名 8番
目 : Induction of therapeutically relevant cytotoxic T lymphocytes in humans by percutaneous peptide immunization. *Cancer Res* 有 66; 10136-10144, 2006.
- ③ Yoshizawa N., Yagi H., Horibe T., Takigawa M., Sugiura M. Primary cutaneous aggressive epidermotropic CD8+T-cell lymphoma with a CD15+CD30- phenotype. *Eur. J. Dermatol.* 有 17(5); 441-442, 2007.
- ④ Seo N., Takigawa M. : The current status and future direction of percutaneous peptide immunization against melanoma. *J. Dermatol. Sci.* 有 48; 77-85, 2007.
- ⑤ 橋爪秀夫 : アトピー性皮膚炎と経皮ワクチン 無 治療学41; 1093-1094, 2007.
- ⑥ Hashizume H., Seo N., Ito T., Takigawa M., Yagi H. : Promiscuous interaction between Gold-specific T cells and APCs in gold allergy. *J. Immunol.* 有 181; 8096-8102, 2008.

[学会発表] (計 1件)

橋爪秀夫 腫瘍ペプチドを用いた経皮免疫療法 シンポジウム2 メラノーマ免疫療法 第25回 日本皮膚悪性腫瘍学会 平成21年5月22日 岡山市

[図書] (計 0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2件)

(1) 経皮投与方法、ニードル形成体及び経皮投薬装置 番号 : 特願 2008-111862, 2008-142397, 2009-005906 取得年月日 : 平成20年4月22日、平成20年5月30日、平成21年1月14日 (特許出願中)

(2) EPI アゴニストを含有してなる免疫増強剤 番号 : 特願 2008-117825 取得年月日 : 平成20年4月28日 (特許出-005906 願中)

○取得状況 (計 0件)

[その他]