

平成22年 5月31日現在

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

研究成果の概要(和文)：我々は、進行期悪性黒色腫患者に対して、皮膚に腫瘍抗原ペプチドを貼付することでランゲルハンス細胞を介して腫瘍特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) を誘導し、抗腫瘍効果発揮することを狙った治療、即ち経皮ペプチド免疫療法を行い、生命予後の改善効果がみられた。

研究成果の概要(英文)：We performed Percutaneous Peptide Immunization (PPI, by putting tumor specific peptide to induce tumor specific CTL, for patients with advanced malignant melanoma. And the PPI improved the patients' prognosis.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
2007年度	10,400,000	3,120,000	13,520,000
2008年度	10,400,000	3,120,000	13,520,000
2009年度	3,000,000	900,000	3,900,000
年度			
総計	34,900,000	10,470,000	45,370,000

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. 研究開始当初の背景

癌細胞特異的な CTL が、癌細胞を直接傷害するばかりでなく、癌の転移も抑制することが判明して以来、CTL に注目した癌の免疫治療がひろく研究されている。とくに、抗癌 CTL が癌抗原を発現した樹状細胞 (dendritic cell; DC) により最も効果的に活性化さ

れることが明らかにされ、DC を利用した免疫療法が実際のがん患者治療に試みられている (Banchereau J, et al. Cell 2001;106:271)。これまでに試行されてきた癌の免疫治療法が実用化しにくい理由として、DC や CTL を in vitro で培養し活性化させる複雑な操作が必要なこと、用いる DC の質が一定

していないこと、培養免疫細胞の投与方法がさまざまであることなどがあげられる。そのため、標準化された治療法がなく、個々の治験の結果を比較し有効性を考証することが困難である (Figdor CG, et al. Nat Med 2004;10:475)。また、DC を作製するために高価な器具を必要とするため、治療を実施できる施設は極めて限られていることも、従来の DC 療法の敷衍を困難にしている。

我々が開発してきた経皮ペプチド免疫療法 (percutaneous peptide immunization; 以下 PPI と略す) の特色は (1) 複雑な操作は必要なく、患者への肉体的、経済的負担が少ない、(2) 皮膚表面からの癌抗原投与のため、操作の安全性を確認しやすく、かつ生体への危険性が少ない、さらには (3) 治療時間が短時間ですむなどがあげられる。

この研究で行われる PPI の独創的な点は皮膚ランゲルハンス細胞を *in situ* で活性化させ、結果としてがん特異的 CTL を誘導することにある。表皮ランゲルハンス細胞は極めて強い抗原提示能をもつ未熟 DC であることが知られている。しかし、デスモゾームによる強固なネットワークをつくる表皮細胞の中に分布しているため、*in vitro* で免疫療法のベクターとして用いることは極めて困難であった。また、*in vivo* で用いるには、未熟な状態から成熟させて抗原提示させることが必要である。PPI では皮膚表面から非観血的にランゲルハンス細胞を活性化し、成熟させることが特徴的である。そのため、操作が容易で、治療器具も安価

であり、さらには出血、痛みなどがなく、施行する医師や、コメディカルまた治療を受ける患者にとって、従来の DC 免疫療法に比べ利点大きい。

ステージ III, IV メラノーマ患者でのパイロット試験では、3人中2人に転移巣の縮小を認めた。したがって PPI から予想される結果としては、*in vitro* で施行される DC 免疫療法の結果と比べてほぼ同等かそれ以上の治療効果を示すことが予想される。さらに、これら患者では、*in vitro* 細胞傷害テストで標的細胞をキリングする CTL が末梢血中に出現していた。したがって、PPI はがん免疫療法の有用な一手段となりえる。

がん免疫療法における意義という点から考えるなら、癌治療をうける患者においては、苦痛からの解放が大きくクローズアップされている。また PPI では特別な技術を必要としないことを考慮すれば、この治療法の実現は社会的要請を強く満たす可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、ヒトにおいて、極めて悪性度のたかい悪性黒色腫治療としての PPI の臨床効果 (生存率・抗腫瘍効果) と副作用を明らかにする。

3. 研究の方法

HLA-A0201 または HLA-A24 を有する病期 III 以上の成人メラノーマ患者に対して行う。PPI の方法としては 5 cm 四方の皮膚 6 か所で角層を粘着材で剥離し、直ちに腫瘍関連抗原ペプチドを貼付し、さらに 2 4 時間後に塗布部位を清拭しペプチドを除去する。原則として月に 1 回の割合で 10 回の経皮免疫を 1 クールとして施行する。治療効果は、治療開始前、後 6 ヶ月目、終了後の計 3 回に、画

像学的検査を行い RECIST に則って有効性を判定する。また同時に末梢血リンパ球で細胞傷害性 T 細胞数を測定する。HLA-A0201 または HLA-A24 を有する病期 III 以上の成人メラノーマ患者 30 例 (病期 III、6 例、病期 IV、19 例) を対象として臨床試験を行った。HLA-A0201 拘束性のペプチドとして、MART-1/Melan-A を、HLA-A24 拘束性のペプチドとして MAGE-2、MAGE-3、gp-100、tyrosinase を用いた。

4. 研究成果

治療が 5 回以上施行可能であった 26 例中、HLA-A0201 の 1 例を除く 25 例において、抗原ペプチドに対する特異的 CTL が治療により誘導された。3 年生存率は、病期 III が 83%、病期 IV が 42% であった。病期 IV の 19 例では、免疫が 7 回以上施行可能であった症例 (12 例) の 3 年生存率が 67% であったのに対して、7 回未満の症例 (7 例) では 0% であった。また試験開始時の病変が皮膚とリンパ節に限局していた症例 (6 例) の 3 年生存率が 100% であったのに対して、その他の臓器にも病変が存在した 13 例では、31% であった。副作用としては、ペプチド貼付部位における一過性の紅斑と掻痒の他に、白斑が出現した例はあるが、自己免疫性反応を含め重篤な副作用は出現しなかった。全経過を通して白斑がみられた例は 8 例であった。これらの結果から本治療は癌治療の臨床における新しい治療戦略となり得ることが示された。

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. 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.
7. 橋爪秀夫 : 腫瘍ペプチドを用いた経皮免疫療法. *Skin Cancer* 有 24; 16-173, 2009.

[学会発表] (計 3 件)

1. 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
2. 瀧川雅浩 : 経皮ペプチド免疫療法によるメラノーマ患者治療. 第 13 回 日本がん

免疫学会総会 平成21年6月24日 北
九州市

3. 藤山俊晴:悪性黒色腫に対する経皮ペ
チド免疫療法 (PPI) の効果の検討. 日
本研究皮膚科学会きさらぎ塾 平成 22
年2月13日沖縄県

[産業財産権]

○出願状況 (計4件)

1. 名称:経皮投与方法、ニードル形成体
及び経皮投薬装置

発明者:瀧川雅浩・稲生昭典

権利者:国立大学法人浜松医科大学・南部化
成株式会社

種類:特許

番号:特願 2008-111862, 2008-142397,
2009-005906

出願年月日: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)

国内外の別:国内

2. 名称:EPI アゴニストを含有してなる
免疫増強剤

発明者:瀧川雅浩・瀬尾尚宏・丸山隆幸・金
治敏也

権利者:国立大学法人浜松医科大学・小野薬
品工業株式会社

種類:特許

番号:特願 2008-117825

出願年月日:平成20年4月28日(特許出願
中)

国内外の別:国内

3. 名称:経皮投薬方法、ニードル形成体及
び経皮投薬装置

発明者:瀧川雅浩・稲生昭典

権利者:国立大学法人浜松医科大学・南部化
成株式会社

種類:特許

番号:特願 2009-101468

出願年月日:平成21年4月17日(出願中)

国内外の別:国内

4. 名称:EPI アゴニストを含有してなる
免疫増強剤

発明者:瀧川雅浩・瀬尾尚宏・丸山隆幸・金
治敏也

権利者:国立大学法人浜松医科大学・小野薬
品工業株式会社

種類:特許

番号:PCT/JP2009/058305

出願年月日:平成21年4月27日(出願中)

国内外の別:国外

6. 研究組織

(1)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

(2)研究分担者

()

研究者番号:

(3)連携研究者

橋爪 秀夫 (HASHIZUME HIDEO)

浜松医科大学・医学部・准教授

研究者番号:50237921

八木 宏明 (YAGI HIROAKI)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:20242779

伊藤 泰介 (ITO TAISUKE)

浜松医科大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:90293638

瀬尾 尚宏 (SEO NAOHIRO)

浜松医科大学・医学部・助教

研究者番号:50283354

戸倉 新樹 (TOKURA YOSHIKI)

産業医科大学・医学部・教授

研究者番号:00172156

島内 隆寿 (SHIMAUCHI TAKATOSHI)

産業医科大学・医学部・助教

研究者番号:90399204

島田 眞路 (SHIMADA SHINJI)

山梨大学・医学工学総合研究部・教授

研究者番号:10114505

柴垣 直孝 (SHIBAGAKI NAOTAKA)

山梨大学・医学部附属病院・講師

研究者番号:40262662

芝木 晃彦 (SHIBAKI AKIHIKO)

北海道大学・大学院医学研究科・助教

研究者番号:40291231