

200936262A

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 大路 正人

平成22(2010)年 5月

厚生労働科学研究費補助金

難治性疾患克服研究事業

血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究

平成21年度 総括研究報告書

研究代表者 大路 正人

平成22(2010)年 5月

目 次

I. 総括研究報告		
血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究	-----	1
大路 正人		
II. 分担研究報告		
1. 血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究	----	9
辻川 元一		
(資料) プロトコール (抄)		
2. 血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究	----	34
白神 史雄		
3. 血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究	----	40
高橋 寛二		
4. 血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究	----	46
中村 祐輔		
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	-----	49
IV. 研究成果の刊行物・別刷	-----	51

I 総括研究報告

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

総括研究報告

血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究

主任研究者 大路 正人

滋賀医科大学医学部眼科 教授

研究要旨

本研究は、難治性・進行性で視力予後不良な疾患である血管新生黄斑症を対象として、その実態調査、病態解明、治療法開発を目的とする。特に、世界的に見て新規の治療法である VEGFR に対する HLA 拘束性ペプチドワクチン療法の開発を重点に行う。

血管新生黄斑症は視力をつかさどる黄斑部に何らかの原因をもって新生血管が発生し、そこからの滲出性の変化も相まって、進行性に黄斑部の解剖学的棄損をもたらし、さらには不可逆性の視力低下を引き起こす疾患群である。加齢黄斑変性はその代表的疾患であり、近年の生活の欧米化に伴い、おもに高齢者の失明の主要な原因として増加し続けている。また、その他の原因、たとえば、網膜色素線条や病的近視において発生する血管新生黄斑症は、病態自体もさらに不明な点が多く、かつ、より若年者に発症することが多いため、進行すれば急激に失明に至るため、就労人口の低下、および、介護必要性の増加等より多くの問題をきたす。

加齢黄斑変性に対しては光線力学療法、および、昨年度抗 VEGF 療法である Rabinizumab（商品名ルセンチス）が承認された。しかしながら、光線力学療法に関しては視力改善効果はなく、抗 VEGF 療法に関しても、その効果は限定的で、かつ、頻繁の硝子体注射を行わなければならない、治療法としては限界がある。また、その他の血管新生黄斑症に関しては、保険治療として認められているものではなく、これらの治療が効果があるのかも今後の研究をまたなければならないが、状況は大きく加齢黄斑変性とは変わらないと考えられる。したがって新たな療法の開発が必要であり、全世界においてそれが行われているが、いまだに治療の選択肢は広がっていない。今回我々は分担研究者が腫瘍領域で開発した血管内皮増殖因子受容体(VEGFR)を標的とした HLA 拘束性エペトープペプチド療法を本疾患群にも適応することを考案した。血管内皮増殖因子受

容体(VEGFR)を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチド療法は厚生省のスーパー特区採択課題の一部であり、我々のワクチンに先行して投与が開始され、安全性の確認、投与の効果が先行して明らかになりつつある。我々は先行課題において 80 人を超える投与において問題となる副作用がなかったという情報を分担研究者から得たことから、本療法の新生血管黄斑症への応用を開始した。まず、分担研究者である大阪大学辻川元一により、標準療法無効例（光線力学療法および抗 VEGF 療法無効例）を対象として VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチド療法の第 I 相臨床試験を、大阪大学医学部倫理委員会、および、附属病院倫理委員会の承認のもとで開始した。これは標準療法無効例ということで重症の患者に投与する傾向となったが、現在のところ対象となる HLA 型である HLA*A0201、HLA*A2402 型の患者、のべ 16 人について一定期間の投与が終了しているが、重篤な副作用は認めていない。また、明らかな解剖学的改善を認める症例は少ないが、HLA 型が合わず、ワクチン療法に入れず、標準療法を続けた群を対照として検討すると、視力予後はワクチン療法群のほうがよいという結果を得ている。

しかしながら、ワクチン療法はその原理からいっても細胞障害性 T 細胞が誘導されるのに一定の時間が必要であり、即効性は低いと考えられる。実際、第 I 相試験においても日単位、または週単位で改善が起きた症例はなく、その間に黄斑部に非可逆的に変性が進行してしまえば視力改善の機会は非常に少なくなる。したがって我々は次の段階としてまず、即効性の認められる抗 VEGF 療法で導入療法を行い、新生血管の活動性を低下させておき、その導入の間にワクチン療法を開始し細胞障害性 T 細胞を誘導することにより、その後の抗 VEGF 療法の回数を軽減することを目的とした第 II 相試験を計画、推進している。これは

主任研究者および分担研究者の複数の組織（滋賀医科大学医学部、香川大学医学部、大阪大学医学部、関西医科大学医学部）においての臨床研究として各施設の倫理委員会にプロトコールを提出しその承認を待って実行する。

【研究分担者】

辻川 元一 （大阪大学・眼科・助教）
白神 史雄 （香川大学・眼科・教授）
高橋 寛二 （関西医科大学・眼科・教授）
中村 祐輔 （東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター長、教授）

A. 研究目的

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験を実行する。本臨床試験は、従来の標準療法に対して抵抗性を示す滲出性新生血管黄斑症に対して、Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1) および Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2/KDR) 由来の HLA-A*0201 拘束性エピトープペプチドを Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) と混和して患者皮下に投与し、病的血管新生の阻害による浸出性変化の軽快を期待するペプチドワクチンの安全性を検証する事を主目的とした第 I 相臨床試験である。副次目的として滲出性変化に対する奏効率とそれに伴う網膜の解剖学的、機能的変化、及び薬剤の毒性を評価する。解析の一部は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターにて行う。

(イ) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験を企画し、各組織倫理委員会に承認を求める。新生血管黄斑症に対し、従来の抗 VEGF 療法の導入療法期間中に、VEGFR1 および VEGFR2 由来の HLA-A*2402、HLA-A*0201 拘束性エピトープペプチドワクチン療法を開始し、以後に必要な抗 VEGF 薬の硝子体注射の回数を軽減すること。副次目的としては薬剤の安全性、網膜の解剖的、機

能的な側面に対する有効性、および、免疫反応に対する効果である。本試験は滋賀医科大学医学部眼科、大阪大学医学部眼科、香川大学医学部眼科、関西医科大学医学部眼科による多施設共同試験として行う。解析の一部は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターにて行う。

B. 研究方法

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験

対象の患者は現在、新生血管黄斑症の標準治療である PDT もしくは抗 VEGF 薬の硝子体注が無効であったか、または、滲出性変化のある新生血管黄斑症であるが、患者意思により上記治療を選択しなかった者で、かつ、同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下、かつ、HLA-A*201 もしくは HLA-A*2402 を有することとする。方法は、ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与する。ペプチド製剤はエピトープペプチド (VEGFR 1 および 2 由来) の混合ペプチドを用いる。投与間隔は 1 週間ごとにおこなう。4 週間ごとに、明らかな病状の悪化が認められなかった場合、投与を継続し最高 3 ヶ月まで投与する。また、4 週ごとに安全性の評価、免疫学的評価、臨床的有効性の評価のための検査を行う。

(イ) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を

標的としたHLA拘束性エピトープペプチドによる維持療法第II相臨床試験。対象は

- ① 新生血管黄斑症で今後、標準的な抗 VEGF 療法の硝子体注による導入療法と維持療法が必要である患者。
- ② 2. 同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下。
- ③ 3. 新生血管について何らかの治療を受けている場合、もしくは他の疾患により何らかの手術を受けている場合は、これら処置による影響から回復していること。もしくは、前治療から 4 週間以上が経過していること

とし症例数は全施設にて各群 40 症例数を予定している、この数字については、期間中抗 VEGF 療法の硝子体投与の回数、2 回分の減少を投与回数の標準偏差 3.0 と予測した場合、検出力 80 %、有意水準 0.05 のもとで Wilcoxon 順位検定にて検出できる症例数である。

方法は文章にて同意取得後、HLA のタイピングのにより、患者を A*2402 群、A*0201 群、コントロール群に振り分ける。全患者に対して通常の抗 VEGF 薬ルセンティスの硝子体投与を 1 カ月ごと 3 回行う。A*2402, A0201 群に対してはこれと同時に、ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与するペプチド療法を開始する。ペプチドを投与間隔は 2 週間ごとにおこなう。行わ

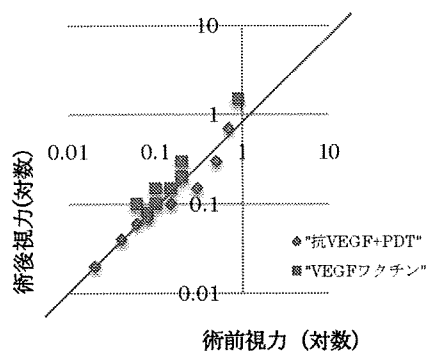
れる抗 VEGF 療法は通常の臨床で行われるものと変わりがなく、これにより患者は不利益を得ない設計になっている。

評価方法は開始後 2 年間にわたって各群において必要であった維持のための抗 VEGF 薬の硝子体注射の回数を記録する。また、4 週ごとに安全性の評価、免疫学的評価、臨床的有効性の評価のための検査を行う。

C. 研究結果

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験

現在までに 16 例の症例に対して投与を行った。この試験は第 1 層試験であるため、現在のところの標準治療である抗 VEGF 療法や光線力学的療法無効例が対象であり、結果的に重症例に対して行うことになっているが、解剖学的にも著効した症例があること。また、同意取得したものの HLA 不適合により治療ができなかったもの（これら症例には従来療法である抗 VEGF 療法もしくは光線力学的療法を引き続き行っている。）を対象として視力の推移を比較したところ、中間報告ではあるが、有意に対象に比べよい視力が得られた。



したがって、少なくとも、このような症例に対しては従来療法に比べ、遜色ない効果があると考えている。また、本来の主目的である安全性においても腫瘍領域における報告と同様、投与部の発赤、腫瘍は認めるが、重篤な副作用は発生していない。したがって、第1相臨床試験は中間段階であるが、十分に当初の目的を達成したと考えている。(ただし、抗VEGF療法や光線力学的療法無効例に対してはその他の治療が事実上存在しないため承認された計画の40例までは試験は継続する。)

(イ) 新生血管黄斑症に対する

VEGFRを標的としたHLA拘束性エピトープペプチドによる維持療法第II相臨床試験。

滋賀医科大学医学部眼科、大阪大学医学部眼科、香川大学医学部眼科、関西医科大学医学部眼科大阪大学医学部においてそれぞれの施設倫理委員会にプロトコルを提出し、承認を待っている状態である。

D. 考察

血管新生黄斑症に対する治療ニーズ

には2種類存在する。まずは抗VEGF療法が無効な症例が存在すること

(約2割ほど)と抗VEGF療法の効果が限定的であることである。つまり、抗VEGF療法だけでは血管新生黄斑症に完全には対処できない。このニーズに対しては当然抗VEGF療法とは異なった療法の開発が急務であり、

本研究で進行中の第1相臨床試験はこれに対する最初の試みである。現在のところ主目的である安全性には全く問題なく、副次目的の視機能においても中間段階においては対象と比べて良い視機能を保持できており良好である。これについては40例の蓄積が当面の課題である。これはエントリー終了予定時の平成23年12月31日までには十分可能な数字である。この結果について国内外への発表を続けることにより、この療法の認知を得るのも大きな課題である。(第63回日本臨床眼科学会(2009年10月10日福岡)にて学会発表済)第2のニーズは抗VEGF療法の危険性

(硝子体投与)と患者の負担の軽減である。現在の抗VEGF療法は頻繁に硝子体投与を繰り返さなければ効果が得られないことが国内外の研究ですでに明らかになっており、この負担は非常に大きい。また、失明につながる重篤な合併症である眼内炎は、投与回数に比例し独立して起こると考えられ、投与回数が多くなれば、頻度が低くとも無視できない。我々はこの欠点を補完するため、我々のワクチン療法と組み合わせることを

考え、第2相臨床試験として準備しており、各大学の倫理委員会の承認を待って、実行予定である。このワクチンは元々腫瘍に対する療法として開発されたものであるが、腫瘍領域においてそもそもワクチン療法はアジュバントとしての再発予防としての使用法が期待されていた。血管新生黄斑症においても同様の期序で抗 VEGF 療法の硝子体投与回数の低減や再発の抑止に効果があることが期待される。当面の2-3年はまさにこの研究の実施期間であり、本臨床試験は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、滋賀医科大学医学部眼科、香川大学医学部眼科、関西医科大学医学部眼科、大阪大学医学部眼科との共同研究で実施する。

E. 結論

VEGFR を標的とした HLA 拘束性ペプチドワクチン療法は、血管新生黄斑症患者に対しても安全に施行できると考えられた。また、視力予後は従来療法と比しても劣っておらず、従来療法と組み合わせて双方の欠点を補完できる可能性が示唆された。

F. 健康危険情報

なし。

G. 研究発表

(ア) 論文発表

1. Sawada O, Kawamura H, Kakinoki M, Sawada T, Ohji M. Vascular Endothelial Growth

Factor in the aqueous humor in eyes with myopic choroidal neovascularization. *Acta Ophthalmol* 2010 Jan 22 E-Pub ahead of print. (in press)

2. Sawada O, Miyake T, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ohji M. Aqueous Vascular Endothelial Growth Factor after Intravitreal Injection of Pegaptanib or Ranibizumab in Patients with Age-Related Macular Degeneration. *Retina*, in press.

3. Tano Y and Ohji M, on behalf of the EXTEND-I Study Group. EXTEND-I: safety and efficacy of ranibizumab in Japanese patients with subfoveal choroidal neovascularisation secondary to age-related macular degeneration *Acta Ophthalmol*, in press.

4. Miyake T, Sawada O, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ogasawara K, Ohji M. Pharmacokinetics of bevacizumab and its effect on vascular endothelial growth factor after intravitreal injection of bevacizumab in Macaque eyes. *Invest Ophthalmol Vis Sci* 2010;51:1606-1608. 2009

Oct 29. E-Pub ahead of print

5. 田野保雄、大路人、石橋
達朗、白神史雄、所 敬、湯澤
美都子 ラニビズマブ(遺伝
子組換え)の維持期における再
投与ガイドライン 日眼
2009;113(11):1098-1103.

(イ) 学会発表

各分担研究報告に記載

H. 知的所有権の出願・登録状況
各分担研究報告に記載

I. 参考文献
各分担研究報告に記載

II. 分担研究報告書

分担研究報告

血管新生黄斑症に対するペプチドワクチン療法に関する研究

分担研究者 辻川元一

大阪大学医学部眼科学教室 助教

【研究要旨】血管新生黄斑症は加齢黄斑変性等により引き起こされ失明の主要な原因となっているが、加齢黄斑変性以外の疾患によるものは罹病数が少なく、病態も不明のままであり、治療法も確立されていない。同疾患においては近年抗 VEGF 薬の硝子体注射（抗 VEGF 療法）が行われるようになったが、効果が不十分であること、さらに効果を維持するためには硝子体注射を何度も繰り返す必要があるため失明にいたる合併症である眼内炎を回避できないことなど問題が多い。我々はこの疾患に対して病的新生血管に多く発現している VEGFR1 および 2 を特異的に認識し傷害する細胞障害性 T 細胞を誘導することができる HLA-A*0201 および A*2401 拘束性のエピトープペプチドを皮下に注射することにより VEGFR 特異的 CTL を誘導して眼内血管新生を阻害するという新しい概念のペプチドワクチン療法を開発している。本研究においてはまず、第 I 相試験として従来療法無効例に対して探索的臨床研究を開始しており、安全性を確認するとともに従来治療に抵抗する症例においても病状の改善をみている症例があること、また、HLA 型の不一致によりワクチン療法に移行できなかった群を対照として視力予後を比較すると、ワクチン群のほうが視力予後がよいという結果を得ている。さらに次の段階としてワクチン療法は硝子体注射が不要という利点を生かし、同ワクチンを用いた維持療法のプロトコルの開発、および、抗 VEGF 薬が無効である症例に対する治療法の開発をめざす。これは治療導入期には即効性を期待できる抗 VEGF 薬を使用し、維持段階で本ワクチン療法を使用するもので、これにより維持期に頻繁に必要とされる抗 VEGF 薬の硝子体投与の回数を軽減することを目的としたプロトコルである。これは現在、倫理委員会に申請中であり、次年度には実行に移したいと考えている。

A. 研究目的

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験

本臨床試験は、従来の標準療法に対して抵抗性を示す滲出性新生血管黄斑症に対して、Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1) および Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2/KDR) 由来の HLA-A*0201 拘束性エピトープペプチドを Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) と混和して患者皮下に投与することで病的血管新生の阻害による滲出性変化の軽快を期待するペプチドワクチンの安全性を検証する事を主目的とした第 I 相臨床試験である。

副次目的として滲出性変化に対する奏効率とそれに伴う網膜の解剖学的、機能的変化、及び薬剤の毒性を評価する。なお、本臨床試験は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターとの共同研究で実施する。

目的及び評価項目

主要目的 (primary endpoint)

安全性

臨床検査値異常変動を含むすべての有害事象

副次的目的 (secondary endpoints)

免疫反応

ペプチド刺激による *in vitro* CTL 誘導能

HLA Tetramer による TCR の量

的解析

臨床的有効性

Fluorescent Angiograph による滲出性の変化、視力変化、光干渉断層計による網膜の解剖学的変化、有害事象

を検討する。

(イ) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピトープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験。

本臨床試験は加齢黄斑変性において標準療法となりつつある抗 VEGF 療法の欠点を補完することを目的として Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 1 (VEGFR1) および Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2/KDR) 由来の HLA-A*0201 拘束性もしくは HLA-A*2402 拘束性エピトープペプチドを Incomplete Freund's Adjuvant (IFA) と混和して患者皮下に投与し、必要とされる抗 VEGF 療法の治療回数を軽減させ、ペプチドワクチンの有用性を検証する事を主目的とした第 II 相臨床試験である。副次目的として、安全性の再確認、網膜の解剖学的、機能的変化、免疫学的変化を評価する。なお、本臨床試験は東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター、滋賀医科大学医学部眼科、香川大学医学部眼科、関西医科大学医学部眼科、大阪大学医学部眼科との共同研究で実施する。

目的及び評価項目

主要目的 (primary endpoint)

有用性

必要であった抗 VEGF 療法の回数の検討。

副次的目的 (secondary endpoints)

安全性

臨床検査値異常変動を含むすべての有害事象

免疫反応

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

HLA Tetramer による TCR の量的解析

臨床的有効性

Fluorescent Angiograph による滲出性の変化、視力変化、光干渉断層計による網膜の解剖学的変化、有害事象

を検討する。

B. 研究方法

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験

対象

現在、新生血管黄斑症の標準治療である PDT もしくは抗 VEGF 薬の硝子体注が無効であったか、または、滲出性変化のある新生血管黄斑症であるが、患者意思により上記治療を選択しなかった者で、かつ、同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下、かつ、HLA-A*2402 もしくは A*0201 を有すること。

ワクチン投与方法

ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント

1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与する。ペプチド製剤はエピトープペプチドの混合ペプチドを用い、投与間隔は 1 週間ごとにおこなう。4 週間ごとに、明らかな病状の悪化が認められなかった場合、投与を継続し最高 3 ヶ月まで投与する

評価

安全性の評価

安全性の評価は、少なくともペプチドを 1 回投与した患者を対象とする。有害事象の有無と程度を National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria,(NCI-CTC) (日本語訳 JCOG 版) version3 を基準に判定する。また、関連性の推測も同時に行う。試験中、最終投与後 14 日以内に Grade4 以上の有害事象及び死亡、生命の危機、永久的な後遺症の発生が予想される重篤な有害事象が生じた際、責任医師あるいは副責任医師は、その事象の治療関連行為との関連性の有無の判定に関わらず、できるだけ速やかに、倫理委員会 (委員長) に報告する。

免疫学的評価

本臨床試験の secondary endpoints の一つであり、ワクチン療法後でペプチド特異的免疫反応が惹起できるかどうかを検討する。

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

末梢血単核球をワクチンしたペプチドにて 5 回刺激し、IFN- γ 産生能を ELISA にて測定する。観察項目とし

て、1.ワクチン前後での IFN- γ 産生量・産生比の変化、2.CTL 前駆体の変化を解析する。

HLA Tetramerによる TCR の量的解析

ワクチン前後における CD8 陽性分画でのペンタマーによる CTL の量的解析を行う。

その他の免疫反応

上記で IFN- γ 産生を認めた細胞から CTL ラインを樹立する。

臨床的有効性の評価

これを行うための眼科学的検査には、矯正視力、精密眼底検査、眼底写真、蛍光眼底造影検査（フルオレスセイン、インドシアニンググリーン）、光干渉断層計（OCT）が含まれる。これらは、新生血管黄斑症の経過観察において本院で通常行われている検査である。

黄斑部の滲出性病変の変化および解剖学的変化

少なくとも本プロトコールで定める 1 コースを終了した患者が対象となる。眼底写真および、蛍光眼底造影検査、光干渉断層計（OCT）により後述のモニタリング委員が判定する。

視力変化（副次的）

試験前後の視力変化を検討する。ただし、今回の試験は慢性期の患者が大多数となると考えられ、療法の効果が得られたとしても視力への影響は大きくないと考えられる。この旨は、試験参加承諾を得る前に、患者にも十分説明するものとする。（滲出性変化の改善により視力が増加しな

くても、明るさなどの自覚症状の改善は多数の例で経験される。）

(イ) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エピソードペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験。

対 象

新生血管黄斑症で今後、標準的な抗 VEGF 療法の硝子体注による導入療法と維持療法が必要である患者。

同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下。

新生血管について何らかの治療を受けている場合、もしくは他の疾患により何らかの手術を受けている場合は、これら処置による影響から回復していること。もしくは、前治療から 4 週間以上が経過していること。全施設にて各群 40 症例数を予定している、この数字については、期間中抗 VEGF 療法の硝子体投与の回数、2 回分の減少を投与回数の標準偏差 3.0 と予測した場合、検出力 80%、有意水準 0.05 のもとで Wilcoxon 順位検定にて検出できる症例数である。当施設の目標はしたがって A*0201 群、A*2402 群それぞれ、40 例とするが共同研究施設を合わせて 40 に到達した時点でエントリー中止とすることができる。

また、本施設において 1 群が 40 に到達したのちでも他群が到達するまでエントリー可能とする。

方 法

文章にて同意取得後、HLA のタイピングのにより、患者を A*2402 群、

A*0201 群、コントロール群に振り分ける。全患者に対して通常の抗 VEGF 薬ルセンティスの硝子体投与を 1 カ月ごと 3 回行う。A*2402, A0201 群に対してはこれと同時に、ペプチドそれぞれを 1mg づつをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下またはソケイ部の皮下に投与するペプチド療法を開始する。ペプチドを投与間隔は 2 週間ごとにおこなう。(詳細は実施計画書に記載) 繰り返しとなるが、行われる抗 VEGF 療法は通常の臨床で行われるものと変わりがなく、これにより患者は不利益を得ない設計になっている。

評価

有用性の評価

評価は、少なくともペプチドを 12 回投与(6 観察単位 (月) 終了)した患者を対象とする。

A*2402 群、A*0201 群、において、CTL が導入されたことが期待できる 3 観察単位 (月) 後から全行程終了までのルセンティス投与回数を記録し、12 観察単位 (1 年) 当たりの投与回数を記録する。対照群においても導入療法終了後からのルセンティス当初回数を記録し、1 年あたりの投与回数を記録する。ただし、ルセンティス投与が必要と判断されたにもかかわらず、患者が以後のルセンティス投与を希望しなかった場合、投与回数 1 回を記録し、以後の検討は行わないものとする。各群におけるルセンティス投与回数の差を統計

学的に検討する。

安全性評価

安全性についてはワクチンを 1 回でも投与した患者を対象とする。

有害事象の有無と程度を National Cancer Institute-Common Toxicity Criteria, (NCI-CTC) (日本語訳 JCOG 版) version4 を基準に判定する。また、関連性の推測も同時に行う。試験中、最終投与後 14 日以内に Grade4 以上の有害事象及び死亡、生命の危機、永久的な後遺症の発生が予想される重篤な有害事象が生じた際、責任医師あるいは副責任医師は、その事象の治療関連行為との関連性の有無の判定に関わらず、できるだけ速やかに、倫理委員会 (委員長) に報告する。

免疫学的評価

本臨床試験の secondary endpoints の一つであり、ワクチン療法後でペプチド特異的免疫反応が惹起できるかどうかを検討する。少なくともワクチンを 3 観察単位 (3 か月) 投与した患者を対象とする。

ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

末梢血単核球をワクチンしたペプチドにて 5 回刺激し、IFN- γ 産生能を ELISA にて測定する。観察項目として、1. ワクチン前後での IFN- γ 産生量・産生比の変化、2. CTL 前駆体の変化を解析する。

HLA Tetramer による TCR の量的解析

ワクチン前後における CD8 陽性分

画でのペンタマーによる CTL の量的解析を行う。

その他の免疫反応

上記で IFN- γ 産生を認めた細胞から CTL ラインを樹立する。

臨床的有効性の評価

これを行うための眼科学的検査には、矯正視力、精密眼底検査、眼底写真、蛍光眼底造影検査（フルオレスセイン、インドシアニングリーン）、光干渉断層計（OCT）が含まれる。これらは、新生血管黄斑症の経過観察において本院で通常行われている検査である。

黄斑部の滲出性病変の変化および解剖学的変化

少なくとも本プロトコルで定める 1 コースを終了した患者が対象となる。眼底写真および、蛍光眼底造影検査、光干渉断層計（OCT）により判定する。

視力変化

試験前後の視力変化を検討する。

試験の完了、評価可能症例、試験中止基準

この試験は、各群共同研究施設を含め 160 例の評価可能症例を得た際に完了となる。評価可能症例とは、1 コース終了した症例、及び、1 コース終了前にワクチン投与に関連すると推定される有害事象により試験を中止した症例と、定義する。ただし、ワクチン投与に関連すると推定される有害事象が 2 例に認められた時点で試験は中止となる。

ヘルシンキ宣言、ICH-GCP ガイドラ

インにより、被試験者はいついかなる時でも、いかなる理由であっても、以降の医療処置等に影響を与えることなく自由意思で試験を中止する権利を有する。中止した場合においても被験者への安全性の配慮から出来るだけ長期間観察し、少なくとも 30 日に 1 回の間隔で観察する。観察期間の画像診断も同様の間隔で施行する。

ワクチン投与の継続

有効性評価により患者の利益となる判定が得られた場合、患者の希望があれば、責任医師の判断によりその患者に対してさらなるコースを繰り返し実施しても良い。

C. 研究結果

(ア) 標準療法無効新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA-A 拘束性エペトープペプチドによる第 I 相臨床試験

第 I 相試験には現在までに 16 名 25 眼が参加した。原因疾患はすべて加齢黄斑変性であった。内 14 名 23 眼が 3 カ月以上の投与を終えた。これらの例はすべて少なくとも 3 カ月のワクチン投与を終了した。このうち、4 名は現在までに投与を終了しているが、残りの 12 名は希望により現在もワクチン投与を継続している。以上のすべての症例において NCI-CTC grade 3 (version 3 による)以上の重篤な副作用を認めていない。1 例において一過性の血圧上昇及び軽い頭痛の訴えがあったが、現在においては消失している。その

他、全身的な合併症においては、他のワクチン療法と同様、投与部位(腋下)の発赤、腫脹が72%に認められたが、許容範囲であった。眼合併症は報告されなかった。

明らかな解剖学的改善は2眼において認められた。1眼は色素上皮剥離の丈が減少し、視力はその後1年にわたって1.0以上を維持している。もう1眼は、嚢胞状の浮腫の丈が減少した。

次に視力への影響であるが、今回の試験においては同意取得後にHLA型の検索を行い、ワクチン適合性を調べるために、同意を得たのちに不適合のため、ワクチン療法に移行できなかった症例が存在する。これら症例は10人13眼であった。これらに対して同意取得後に行った治療をレトロスペクティブに調査したところ、抗VEGF療法の複数回投与を行ったものが5眼、PDTと抗VEGF療法の複合療法に加え、抗VEGF療法の単独投与を行ったものが2眼、抗VEGF療法の単回投与を行ったものが1眼、無治療は5眼であった。よって、これらの症例においても、積極的な従来療法がおこなわれていることが示唆された。これらの症例を対照としてワクチン療法の効果を術前後の視力の変化量をLogMAR変化量ベースでみたところ、ワクチン投与群では -0.068 ± 0.22 、対照群では 0.107 ± 0.12 (LogMAR換算であるので負の値のほうが視力予後がよい)であり、この差は $p=0.015$ をも

って有意であった。(t検定)

(イ)新生血管黄斑症に対するVEGFRを標的としたHLA拘束性エピトープペプチドによる維持療法第II相臨床試験
大阪大学医学部附属病院臨床試験部にプロトコールの倫理承認を申請した。

D. 考察

血管新生黄斑症 血管新生黄斑症の一つである加齢黄斑変性は先進諸国に多い難病である特定疾患で、本邦における高齢化、西欧化の影響で増加の一途をたどっている。すでに本邦においても社会的失明の原因の重要な一つとなっている。この疾患に対しても有効治療は大変限られているが、その他の血管新生黄斑症(たとえば、網膜色素線条など)においては罹病数も少なく、治療法についても加齢黄斑変性に対するものをそのまま用いてよいのかどうかも含め全くの未知である。また、これら血管新生黄斑症は加齢黄斑変性に比して若年者で発症しやすく、進行すれば急激に社会的失明にいたることより、就労人口の低下、および、介護必要性の増加等より厚生労働問題において負の影響をきたす。加齢黄斑変性においても老年期に急激に視力を喪失するために、介護に関する需要を引き起こし、これは加齢黄斑変性が全人口の3%を占めることを考えれば、やはり大きな負の影響を与える。これらは本邦のみではなく西欧先進国においては共通の問題であり、この疾患に関する関心は非常に高い。

加齢黄斑変性に対しては抗 VEGF 療法等が開発され、これらは血管新生黄斑症一般に対してもある程度の効果が報告されているが、加齢黄斑変性に対してと同様、その効果は限定されたものである。また、これら治療薬は血管新生黄斑症に対しては保険が認められていないにもかかわらず、非常に高価である。本年認可されたルセンチイス硝子体注 (Rabintumab) は一回の薬価が 18 万円に相当し、長年に亘る繰り返しの投与が奨励されている。上記疾患の中には、網膜色素線条、網膜内血管増殖等、加齢黄斑変性に比しても明らかに再発率が高い疾患も含まれ、治療効果の面だけでなく、経済学的状況からも治療における抗 VEGF 療法のみでの解決は難しい。また、抗 VEGF 療法は知財を海外企業が有し、高齢化社会を迎えつつある本邦の医療経済において、医療費高騰による保険料負担増のみならず、海外へ資産流出は看過できない問題である。上記のように血管新生黄斑症に対する治療の開発は歴史的にも国外で多く進められ、新規療法についても同様である。しかし、新規療法といってもやはり、VEGF を対象としたものが多い。(可溶性レセプターや siRNA による発現抑制) その他のものとしては VEGFR を対象とするものも、レセプター以下のシグナル抑制剤 (PKC 阻害) などであり、直接新生血管および、その内皮細胞を傷害することはできない。我々の分担研究者、中村らは以前より

腫瘍に対する特異的免疫療法 (ワクチン療法) を開発してきた。これは腫瘍特異的抗原を慎重に選ぶことにより従来よりも良好な効果が得られるが、腫瘍の進展においては MHC 分子の腫瘍細胞表面への発現がしばしば減弱し、CTL による選択的誘導細胞死を回避してしまうことが起きること、また、腫瘍の種類により標的分子を特定し、変えなければならないという欠点が存在した。これらの欠点を克服するため、分担研究者は腫瘍そのものではなく、腫瘍を栄養する腫瘍血管に対するワクチン療法を開発した。彼らは腫瘍血管に強く発現し、正常組織には弱い発現しかない、VEGFR1 および、VEGFR2 を標的分子とする。これらは腫瘍患者に対して先行して臨床試験が行われており 80 名を越した時点で問題となる副作用が存在しないこと、および、一定の効果を認めていることより、本ワクチンを血管新生黄斑症にも適応することとした。第 I 相試験の結果は途中であるが、安全性には問題がなく、効果も従来療法に比して遜色ないと考えられた。しかしながら、この試験を通してワクチン療法の問題点も明らかとなった。ワクチン療法においては細胞障害性 T 細胞が誘導されるのに一定の月日が必要であるために療法開始から効果が得られるまで最低で 2 週間ほどかかるようである。(多くの症例は 3 カ月ほど) したがって機能の保持が重要である眼科領域においては効果が得られるまでに時間がかかりすぎる。一方、