

欠点を相補する形での第2相臨床試験を準備している。この試験ではまず定法通り月に1回、3か月の抗VEGF療法による導入と同時にワクチン療法の導入も開始する。その後の2年間において必要である抗VEGF療法の硝子体注射の回数を減らすことが目的である。この試験により予想通りの結果が得られれば患者の負担の軽減に貢献するところ大であると考え。また、現在も血管新生黄斑症に対しては新規療法が多く開発されつつあるが、本研究課題であるワクチン療法のように理論的にVEGFRを発現する新生血管内非細胞を除去できるような治療は少なく、本研究により、従来の治療が無効であった症例にも治癒の可能性が開けるだけでなく、眼科的に危険性の高い硝子体注入を回避し、安全な治療法が確立されるのは、大きな意義を持つと考える。さらに、安価で副作用が少なく効果的な薬を、日本で開発することは、日本だけでなく世界の医療経済に大きく貢献するものと思われる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

(ア) 論文発表

1. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Hamasaki T. Macular Pigment Optical Density in Central Serous Chorioretinopathy. Invest Ophthalmol Vis Sci. 2010; 51:2519-25

2. Wakabayashi T, Sawa M, Gomi F, Tsujikawa M. Correlation of fundus autofluorescence with photoreceptor morphology and functional changes in eyes with retinitis pigmentosa. Acta Ophthalmol. 2010;88:177-83

3. Yamamoto T, Kamei M, Sayanagi K, Matsumura N, Nishida K, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Tano Y. Simultaneous intravitreal injection of triamcinolone acetonide and tissue plasminogen activator for central retinal vein occlusion: a pilot study. Br J Ophthalmol. 2011 95:69-73

4. Gomi F, Sawa M, Wakabayashi T, Sasamoto Y, Suzuki M, Tsujikawa M. Efficacy of intravitreal bevacizumab combined with photodynamic therapy for polypoidal choroidal vasculopathy. Am J Ophthalmol. 2010 150:48-54.

5. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, Tsujikawa M, Nishida K. Effect of Cataract in Evaluation of Macular Pigment Optical Density Using Autofluorescence Spectrometry.. Invest Ophthalmol Vis Sci. in press

(イ) 学会発表

第64回日本臨床眼科学会

(2010年11月11日神戸)

G. 知的財産権の出願・登録状況
特許出願番号 特願 2009-140363

脈絡膜血管のワクチン療法

H. 参考文献
なし

(資料) プロトコール (抄)

実施計画書 (実施要綱)

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*0201 拘束性エピトープペプチドによる第 I 相臨床試験

主任研究者 感覚器外科学 (眼科) 准教授 大黒伸行

目次

1 目的

1-1 目的及び評価項目

1-1-1 主要目的 (primary endpoint)

1-1-2 副次的目的 (secondary endpoints)

2 背景と必要性

2-1 血管新生黄斑症に対する療法について

2-1-1 光線力学療法 (PDT) について。

2-1-2 抗 VEGF 療法について。

2-2 免疫療法についての背景

2-3 本臨床試験の理論的根拠

2-4 この治療に予想される副作用

3 実施計画

3-1 選択基準

3-2 除外基準

4 治療計画

4-1 対象患者の選択

4-1-1 HLA-A*201 発現検査法

4-2 ペプチド及びアジュバントの投与量及び投与方法

4-3 投与スケジュール

4-4 品質管理

4-4-1 ペプチドに関して

4-4-2 アジュバントに関して

4-5 試験薬の管理及び調整法

4-6 「予備試験投与」について

4-7 症例数

4-8 予定期間

4-9 経費

5 治療の毒性及び投与量・投与方法の変更について

5-1 本臨床試験の中止基準

5-2 重篤な有害事象の記録及び報告

5-3 Grade3 以上の有害事象が出現した場合の対応

6 臨床試験スケジュール・患者評価

6-1 試験カレンダー

6-2 検査項目

7 本臨床試験の評価

7-1 安全性の評価

7-2 免疫学的評価

7-2-1 ペプチド刺激による in vitro CTL 誘導能

7-2-2 HLA Tetramer による TCR の量的解析

7-2-3 その他の免疫反応

7-3 臨床的有効性の評価

7-3-1 黄斑部の滲出性病変の変化および解剖学的変化

7-3-2 視力変化（副次的）

7-4 試験の完了、評価可能症例、試験中止基準

7-5 ワクチン投与の継続

8 被験者に対する説明・同意の取得

9 データの取扱い・保管

9-1 記録の保管

9-2 原資料

10 公表に関する取り決め

11 研究施設

12 臨床的有効性の評価に関するモニタリング委員会について

13 役割・責務

12-1 責任医師の氏名及び責務

12-2 分担研究者、研究協力者の所属、氏名及び責務

14 参考文献

付録

1 目的

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。

1-1 目的及び評価項目

1-1-1 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

1-1-2 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

2 背景と必要性

2-1 血管新生黄斑症に対する療法について

血管新生黄斑症は黄斑部網膜下に脈絡膜新生血管の発生とそれに伴う滲出性の変化により、視細胞を中心とした網膜神経細胞が非可逆的に障害され高度の視力低下をきたす疾患群である。[1-4]中でも加齢黄斑変性はわが国において患者数が急増し中途失明者の原因疾患の上位を占めるに至って早急な対策が望まれる。その他、近視性脈絡膜新生血管、網膜色素線条合併の血管新生黄斑症、特発性脈絡膜新生血管も黄斑下の脈絡膜新生血管により同様の視機能障害を来す。これらに対する標準療法としては現在のところ、1.光線力学療法 (PDT) および、2.主に抗体を用いた VEGF を標的とした抗 VEGF 療法が行われている。しかしながら以下に述べる点においてこれらの療法は万全のものではない。

2-1-1. 光線力学療法 (PDT) について。

加齢黄斑変性により生じた中心窩下脈絡膜新生血管に対しては近年光線力学療法が認可されており、新生血管黄斑症におけるほぼ唯一の認可された治療法である。治療群は自然経過群と比較して視力予後が有意によいとされるが、視力向上は数%において認

められるのみである[5-9]。他の疾患は PDT の適応外である。PDT は LDL 親和性をもつ薬理成分 verteporfin が LDL レセプターに指向性を示すことを利用し、LDL レセプターを周囲よりも比較的高く発現する血管内皮細胞に集積させ、それに、基本的には細胞障害性を持たないレベルの弱いレーザーを照射する。これにより verteporfin が活性酸素を発生することより、ある程度の血管内皮細胞を直接選択的に障害できると考えられる[5-9]。しかしながら、実際の効果は下記の抗 VEGF 療法よりも劣ることが報告されている[10]。

2-1-2 抗 VEGF 療法について。

現在本邦においては PDT 以外に新生血管黄斑症に対する認可された治療は存在しない。しかしながら、世界的には VEGF を何らかの形で中和する抗 VEGF 療法が広く使われている[10-13]。本教室においても、抗 VEGF 抗体であり大腸がんにおける新生血管抑制より腫瘍抑制効果のある Bevacizumab の硝子体内投与を高度先進医療として申請し、新生血管黄斑症に対して使用している[14,15]。Bevacizumab 等の抗 VEGF 薬の硝子体内投与は世界的に見てもはや新生血管黄斑症に対する標準療法となっており、同様の薬理作用を持った Ranibizumab、Pegaptanib が本邦においても保険申請されており、近々認可されると思われる。

しかしながら、これらの療法は血管内皮細胞を直接傷害し得るか否かは不明であり、Bevacizumab の硝子体内投与においても視力向上は望みにくく、また、滲出性変化も持続する症例も多く、治療としては不十分である[10-13]。

また、投与法は硝子体内への注入であるが、この手法に特有の合併症である眼内炎の発症は頻度は低いものの、きわめて重篤な視機能の低下をきたす。また、この投与法においては病態の寛解を得られてもそれを継続する為には 1 ヶ月毎との硝子体注入を繰り返さなければならぬことも指摘されている。この反復投与により、発生頻度が低くとも眼内炎は無視できない合併症であり[16]、実際当科が行っている Bevacizumab の硝子体内投与においても発生を認めた。従って、より安全で長期の効果がある療法が望まれる。

これらの理由より、両療法とも現段階では血管新生黄斑症治療に対しては限界があり、新規療法の開発をおこなっていく必要がある。

2-2 免疫療法についての背景

細胞傷害性 T 細胞(CTL)によって認識・傷害される腫瘍抗原が発見され、その後、腫瘍特異的抗原が次々と同定され、これを標的とする特異的免疫療法であるエピトープペプチドを用いたがんワクチン療法の臨床試験が進行中であるが、新たな問題点も明らかになってきた。たとえ強力な CTL が誘導できても腫瘍細胞における HLA Class I の発現低下や消失、さらには腫瘍細胞における標的分子の欠落などの原因で、CTL の抗腫瘍効果が無くなってしまうことである。また、現在同定されている腫瘍抗原ペプチドはある種の腫瘍に存在するが、すべての腫瘍を網羅できるものではない。そこで、これらの問題を克服するため、ワクチン療法による CTL の標的細胞を腫瘍細胞自身ではなく腫瘍新生血管とし、腫瘍新生

血管由来分子を標的としたワクチン療法を考案した。これが VEGFR1,VEGFR2 を標的分子としたペプチドワクチンである。これらの分子は正常細胞にはほとんど発現しておらず、新生血管に高発現し、新生血管の増殖に不可欠な血管内皮細胞増殖因子受容体の一つである。これを用いた固形腫瘍に対する第 I 相試験は既に本邦で複数のプロトコールがおこなわれており、そのうちには Phase I の結果を元にして、現在、複数の癌種で多施設での Phase II の準備中であるものも含まれる。

新生血管黄斑症に関して VEGF が新生血管の発生維持に深くかかわっていることは抗 VEGF 療法がこの疾患に対しある程度の治療効果を示すことから明らかである。また、VEGFR1,VEGFR2 の発現が主に新生血管に認められることは既に報告がある[17,18]。したがって VEGFR1,VEGFR2 が免疫療法の標的となりえれば、CTL により新生血管の血管内細胞を直接、選択性を持って傷害できることより、より高い治療効果と低い副作用を期待できる。

VEGFR1 および 2 が免疫療法の標的となり得るか否かに関しては、VEGFR1 および 2 タンパク及び DNA をワクチンした基礎的研究の結果、腫瘍の種類に関わらず、腫瘍新生血管を抑制することで抗腫瘍効果を認め、この抗腫瘍効果は VEGFR1 および 2 特異的細胞障害性 T 細胞が担っていることが確認された。以上より、VEGFR1 および 2 は抗腫瘍免疫療法の標的となり得ることが明らかとなった[19,20]。さらに、我々のヒトにおける基礎的解析の結果、VEGFR1 および 2 を認識し傷害する CTL クローンが存在することを証明し、強力な CTL を誘導できる数種類の HLA-A*0201 拘束性のエピトープペプチドをそれぞれ同定した。このエピトープペプチドで誘導された CTL は、VEGFR1 および 2 を内因性に発現する血管内皮培養細胞(HUVEC)を HLA 拘束性に傷害した。さらに、マウス *in vivo* 抗腫瘍効果の検討で、VEGFR1 および 2 由来エピトープペプチドを用いたがんワクチン療法により、強い抗腫瘍効果を確認した。併せて本臨床試験に用いるペプチドで、癌患者末梢血からも CTL を誘導できたことにより、CTL 前駆体細胞が存在することが明らかになった[21,22]。これらより、VEGFR が少なくとも腫瘍に対する免疫療法の標的となりうるのは確実であるが、新生血管黄斑症における眼内新生血管においても、マウスにおける実験的脈絡膜新生血管において、VEGFR ペプチドにより、CTL を誘導することによって眼内新生血管が抑制されることが示されている[23]。

以上より、本ペプチドを投与し患者に VEGFR2 特異的 CTL を誘導することで、眼内血管新生を阻害することにより新生血管黄斑症に対する治療効果を期待できる。

2-3 本臨床試験の理論的根拠

本臨床試験では、ワクチン製剤はエピトープペプチド XXXXXXXX (VEGFR2 由来; [22]) と XXXXXXXX (VEGFR1 由来; [21]) の混合ペプチドを用いる。その理論的根拠は下記のとおりである。

1. VEGFR1 および VEGFR2 は新生血管黄斑症における眼内新生血管の発生維持

に重要な分子であるが、成人正常組織での発現は少なく、病的新生血管における血管内皮細胞にある程度特異的と考えられること。in vitro において、本ペプチドを用いて特異的 CTL が誘導できる[21,22]。

2. VEGFR 1、2 由来 HLA-A*0201 エピトープペプチドを用いて in vitro において特異的 CTL が誘導できる[21,22]。
3. 日本人の約 20%は HLA-A*0201 を保有している[24]。
4. 生化学的にも安定であり、臨床試験に適する[21,22]。
5. 実験的眼内新生血管に対して CTL 誘導が抑制的効果をもつ[23]。

2-4 この治療に予想される副作用

ペプチドを用いたがんワクチン療法の臨床試験において従来報告されている有害事象は、白斑、発熱、悪寒、頭痛、不快感であった。また、一過性の注射部位の過敏反応（発赤、腫脹）に関する複数の報告があるが、その他の局所又は全身性の反応、重大な副作用は認められていない。しかし、本ワクチン療法により誘導された CTL の標的細胞は新生血管内皮細胞であり、わずかながら正常細胞にも発現している。VEGFR2/KDR の蛋白免疫におけるマウスのデータでは、創傷治癒の遅延、胎盤形成不全、新生児異常が報告されており[19,20]、十分な注意を要する。なお、2 系統のマウスを用いた前臨床試験（急性毒性）では、特筆すべき有害事象は確認されなかった。また、各種固形腫瘍に対して終了した或いは現在進行中の VEGFR レセプター由来のペプチドを用いた同様のワクチン療法の参加者 11 施設 80 人においても有害事象は上記の範囲にとどまっており重篤な合併症は発生していない。

また、眼新生血管のモデルにおいて、同様の方法が新生血管を抑制したにもかかわらず、副作用がなかったこと、特に、血管炎の好発部位である網膜血管に異常を認めなかったと考えられること[23]からも、本研究の安全性は高いと考えられる。

さらに、本分子標的が脳梗塞等の血管イベントに促進的に関与するという報告は無いが、本試験においては対象が眼疾患患者であることも鑑み、頸動脈エコー検査を行うなどの最大限の配慮を行っていることを付記する。

3 実施計画

3-1 選択基準

1. 現在、新生血管黄斑症の標準治療である PDT もしくは抗 VEGF 薬の硝子体注施行 4 週間以上の時点でこれらの治療に抵抗性であり滲出性変化が持続しており、かつ、矯正視力が 0.5 以下の症例。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。
2. 同意取得時の年齢が 40 歳以上 85 歳以下。
3. 何らかの手術を受けている場合は、手術による影響から回復していること。もしくは

は、前治療から 4 週間以上が経過していること。

4. 骨髄機能（白血球数 2000/mm³ 以上、15000/mm³ 以下、血小板数 7.5/mm³ 以上）、肝機能（GOT 150IU/L 以下、GPT 150IU/L 以下、T-bil 3.0g/dL 以下）、腎機能（Cr 3.0 以下）の主要臓器機能が保たれていること。
5. HLA-A*201 を有すること。
6. 頸動脈エコー検査により著しい動脈硬化性所見をみとめないこと
7. 眼底所見にて血圧及び硬化性変化が両眼とも Scheier H₂S₂ かつ、糖尿病網膜症所見が単純糖尿病網膜症以下であること。
8. 治療内容を理解し、患者本人の同意を文書で得られること。

3-2 除外基準

1. 妊婦（本臨床研究開始後は妊娠可能な女性は避妊する）。
2. 授乳中の女性（本臨床研究開始後は授乳を中止する）。
3. 妊娠の意思のある患者（試験期間中は男女共に適切な避妊をする）。
4. 制御困難な活動性感染症を持つ患者。
5. 過去 5 年において脳血管障害、心循環障害（心筋梗塞、狭心症等）を経験した患者。
6. 治療にもかかわらずコントロール不能の高血圧のある患者。
7. 試験中に以下の薬剤を投与する必要がある患者。
副腎ステロイド剤の全身および眼局所投与又は免疫抑制剤の全身投与
（非ステロイド性消炎鎮痛剤は使用を認めるが、薬剤名と使用量を記録すること。）
8. 治癒に至っていない外傷性病変を有する患者。
9. 腸管麻痺あるいは間質性肺炎が疑われる患者。
10. 医師、責任医師が不適切と認めた患者。

4 治療計画

4-1 対象患者の選択

対象患者は、HLA-A*201 を保有しており、新生血管黄斑症の標準的な治療である PDT もしくは抗 VEGF 療法に抵抗性を示す患者、または患者の意思により PDT もしくは抗 VEGF 療法を施行しなかった患者とする。

4-1-1 HLA-A*201 発現検査法

外注検査として株式会社エスアールエルに依頼する（genotype の解析を行う）。

4-2 ペプチド及びアジュバントの投与量と投与方法

2-3 に示した合成ペプチド 1mg づつのペプチドをそれぞれ不完全フロイントアジュバント 1mL と混合し、患者腋下の皮下に投与する。

4-3 投与スケジュール

下記のスケジュール 28 日を 1 コースとする。本試験においては連続 3 コースを最長投与単位とする。

	1 Vac	2 Vac	3 Vac	4 Vac
ワクチン投与	day 1	day 8	day 15	day 22
	↓	↓	↓	↓

各コース終了時に責任医師が明らかに病状が悪化したと判断した場合は次回コースからの投与を中止できるものとする。

4-4 品質管理

4-4-1 ペプチドに関して

GMP grade のペプチドを東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターより供与を受ける。

4-4-2 アジュバントに関して

GMP grade 準拠の **Incomplete Freund's Adjuvant** を購入する。

4-5 試験薬の管理及び調整法

ペプチドの保管及びペプチドワクチンの調整は大阪大学附属病院薬剤部にて実施する。

4-6 「予備試験投与」について

ワクチンを初回投与する前に予備試験投与として 10 μ g のペプチドを本投与する場所以外の皮下に投与して、30 分間経過観察する。Grade3 以上の局所反応あるいは全身的有害事象がみられなければ、本投与を実施する。

4-7 症例数

20 例とする。

4-8 予定期間

研究実施承認後 ～ 平成 23 年 12 月 31 日登録まで

4-9 経費

この臨床試験に用いるペプチド及びアジュバント(XXXXXXXXXXXXXX)に関連する経費を患者に請求しない。また HLA タイピング検査費用、頸動脈エコー検査費用についても患者

に請求しない。通常検査（レントゲン、CTなどの画像検査、血液検査、蛍光眼底像影、光干渉断層計など眼科学的検査）などの通常の治療や入院費に関しては通常の支払方法（例えば健康保険など）とする。また、本ペプチド治療による有害事象が生じた場合にも、金銭的補償はないことは症例登録前に、文章および口頭にて対象患者に十分説明を行なう。

5 治療の毒性及び投与量・投与方法の変更について

5-1 本臨床試験の中止基準

A. 規定を超える有害事象が出現した場合

因果関係の否定できない Grade4(NCI-CTC version 3.0)以上の血液学的毒性（嘔気・嘔吐は除く）もしくは Grade3(NCI-CTC version 3.0)以上の血液学的毒性を用量制限毒性(DLT: Dose Limiting Toxicity)とし、DLT が 2 例出現した時点で本臨床試験は中止とする。(4-5 参照)

B. 施設内倫理委員会から中止勧告が出た場合

C. 責任医師が各投与コースの終了時において病状が明らかに悪化していると判断した場合

D. 責任医師が試験の継続を不適切と判断した場合

本臨床試験の中止が決まった場合、責任医師は施設内倫理委員会委員長に報告する。

5-2 重篤な有害事象の記録及び報告

主治医は重篤な有害事象が発現した場合、因果関係の有無に関係なく、別紙の表で記載し検討を加える。また主治医は直ちに責任医師に連絡を取り、施設内倫理委員会委員長に報告をしなければならない。

5-3 Grade3 以上の有害事象が出現した場合の対応

NCI-CTC version 3.0 にて Grade 3 以上の有害事象が発現した場合、Grade1 以下に回復するのを待って、投与を再開することができる。

6 臨床試験スケジュール・患者評価

6-1 試験カレンダー

	1Vac	2Vac	3Vac	4Vac
ワクチン投与	day 1	day 8	day 15	day 22
	↓	↓	↓	↓
血液検査	↑			↑
眼科学的検査	↑			↑
免疫学的解析	↑			↑
効果判定				↑

投与前後の検査については投与から2週間後までに行うものとする。

6-2 検査項目

ワクチン投与前の検査に関して、血液・生化学・眼科学的検査はエントリーの2週間前まで施行する。できる限り写真などで保管する。

①投与前後の身体所見（1週ごとに実施）

身長、体重、血圧、脈拍、アレルギー反応（血圧低下・頻脈・呼吸困難の有無、皮疹）
尿量及び呼吸音（随時）

②投与前後の一般的血液・尿検査（4週ごとに実施）

血算：白血球数、赤血球数、ヘモグロビン値、ヘマトクリット、血小板数

凝固：プロトロンビン時間(PT)、活性化部分トロンボプラスチン時間(APTT)、フィブリノゲン値、フィブリン分解産物

生化学：グルタミンオキザロ酢酸トランスフェラーゼ(GOT)、グルタミンピルビン酸トランスフェラーゼ(GPT)、アルカリフォスファターゼ(ALP)、乳酸脱水素酵素(LDH)、ロイシンアミノペプチターゼ(LAP)、γグルタミル転換酵素(γGTP)、総ビリルビン値(T.Bil)、直接ビリルビン(D.Bil)、総蛋白(TP)、アルブミン値(Alb)、尿素窒素(BUN)、クレアチニン(Cr)、尿酸(UA)、ナトリウム(Na)、カリウム(K)、クロール(Cl)、カルシウム(Ca)、無機リン(iP)、血糖値、アミラーゼ、クレアチンキナーゼ、亜鉛(Zn)

血清：C反応性蛋白(CRP)、免疫グロブリン(IgG/A/M, IgE)、リウマチ因子(定量)
(採血量 20ml)

③投与前後の視機能の評価（4週ごとに実施）

視力、蛍光眼底造影（フルオレスセイン、インドシアニングリーン）、網膜光干渉断層計(OCT)。これらは眼科的診断にはルーチンの検査であり必要なら随時おこなう。

④末梢血を用いたモニタリング

CTL activity, ELISPOT assay, HLA-tetramer

4週間に一度30mlの採血(②)における採血とは別途)を実施し、末梢単核球(PBMC)を回収し解析する。また、将来の解析のために可能な限りPBMCを保存する。免疫学的解析は、共同研究施設にて施行することがある。

7 本臨床試験の評価

7-1 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。

7-2 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。

7-2-1 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。

7-2-2 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。

7-2-3 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。

7-3 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。

7-3-1 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。

7-3-2 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。）

7-4 試験の完了、評価可能症例、試験中止基準

この試験は、20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。

7-5 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同一プロトコールを再度繰り返し実施しても良い。

8 被験者に対する説明・同意の取得

本試験に参加する全ての被験者に対し、全ての治験に関する検査・投薬等の処置に先立ち、本試験に関する十分な説明を行い、自由意思による同意の取得を文書にて行わなければならない。

9 データの取扱い・保管

9-1 記録の保管

責任医師及び実施医療機関は当該試薬が承認されるか、若しくは試験を実施しないあるいは中止する決定から3年を経過するまでの後の日まで、医師法に保管が定められていない資料も含め、本試験に関するすべての資料（原資料を含む）を保管しなければならない。保管場所は、カルテは中央病歴部にて管理し、その他のものは感覚器外科学（眼科）の施設できるところに保存する。電子データは他から侵入不可能なパスワードにて管理されたコンピュータを使用する。また、本試験においては、学外のモニタリング委員に滲出性病

変の変化の判定を依頼するが、この際のデータは符号化しモニタリング委員には個人情報
が渡らないよう配慮する。そのための管理委員として大阪大学医学部眼科学講師：生野 恭
司 を任命する。

9-2 原資料

原資料には以下の物が含まれる。

- ・ 診療記録（各種検査伝票等、電子データを含む）
- ・ 画像診断記録

なお、以下のデータに関しては症例報告書に記載された内容を原資料として取り扱う。

- ・ 有害事象とそのグレード
- ・ 有害事象の因果関係

10 公表に関する取り決め

本試験に関わるいかなる者も、本試験にて得られた成績等に関し守秘義務を有すると
もに、その成績等の公表（学会発表等を含む）においては、事前にその内容等に関し実施責
任医師の承諾を得るものとする。

11 研究施設

この臨床研究は感覚器外科学（眼科）と東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センター
の共同研究として施行する。ただし、評価判定については免疫学的解析は感覚器外科学（眼
科）、東京大学医科学研究所ヒトゲノム解析センターおよびその関連施設で施行する。

12 臨床的有効性の評価に関するモニタリング委員会について

臨床的有効性の評価に関する判定は、外部のモニタリング委員会にて行う。

14 参考文献

- [1] Bressler M. Age-related macular degeneration is the leading cause of blindness. JAMA 2004;291:1900-1
- [2] Friedman S, O'Colman J, Munoz B, et al. Prevalence of age-related macular degeneration in the United States. Arch Ophthalmol 2004;122:564-72
- [3] Resnikoff S, Pascolini D, Etya'ale D et al. Global data on visual impairment in the year 2002. Bull World Health Organ 2004;82:844-51
- [4] Augood C, Fletcher A, Bentham G et al. Methods for population-based study of the

prevalence of and risk factors for age-related maculopathy and macular degeneration in elderly European populations. *Ophthalmic Epidemiol* 2004;11:117-29

[5] Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: one-year results of 2 randomized clinical trials – TAP report. *Arch Ophthalmol* 1999;117:1329-45

[6] Verteporfin in Photodynamic Therapy Study Group. Verteporfin therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration: two-year results of a randomized clinical trial including lesions with occult with no classic choroidal neovascularization – Verteporfin In Photodynamic Therapy (VIP) report 2. *Am J Ophthalmol* 2001;131:541-60

[7] Bressler M. Photodynamic therapy of subfoveal choroidal neovascularization in age-related macular degeneration with verteporfin: two-year results of 2 randomized clinical trials – TAP report 2. *Arch Ophthalmol* 2001;119:198-207

[8] Guidelines for using verteporfin (Visudyne) in photodynamic therapy for choroidal neovascularization due to age-related macular degeneration and other causes: update. *Retina* 2005;25:119-34

[9] Japanese Age-Related Macular Degeneration Trial (JAT) Study Group. Japanese age-related macular degeneration trial: 1-year results of photodynamic therapy with verteporfin in Japanese patients with subfoveal choroidal neovascularization secondary to age-related macular degeneration. *Am J Ophthalmol.* 2003;136:1049-61

[10] Brown M, Kaiser K, Michels M, et al. Ranibizumab versus verteporfin for neovascular age-related macular degeneration. *N ENGL J MED* 2006;355:1432-44

[11] Rosenfeld J, Moshfeghi A, Puliafito A. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of Bevacizumab (Avastin) for neovascular age-related macular degeneration. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36:331-335.

[12] Rosenfeld J, Fung E, Puliafito A. Optical coherence tomography findings after an intravitreal injection of Bevacizumab (Avastin) for macular edema from central retinal vein occlusion. *Ophthalmic Surg Lasers Imaging* 2005;36:336-339.

[13] Rosenfeld J, Brown M Heier S, et al. Ranibizumab for neovascular age-related macular degeneration. *N Engl J Med* 2006;355:1419-31

[14] Gomi F, Nishida K, Oshima Y, et al. Intravitreal bevacizumab for idiopathic choroidal neovascularization after previous injection with posterior subtenon triamcinolone. *Am J Ophthalmol.* 2007;143:507-10.

[15] Gomi F, Sawa M, Sakaguchi H, Tsujikawa M, et al. Efficacy of Intravitreal bevacizumab for polypoidal choroidal vasculopathy. *Br J Ophthalmol.* 2007;92:70-3

[16] LinksPilli S, Kotsolis A, Spaide F, et al. Endophthalmitis Associated with

Intravitreal Anti-Vascular Endothelial Growth Factor Therapy Injections in An Office Setting. *Am J Ophthalmol*. 2008 Mar

[17] Kinose F, Roscilli G, Lamartina S, Inhibition of retinal and choroidal neovascularization by a novel KDR kinase inhibitor. *Mol Vis*. 2005;11:366-73

[18] Witmer N, Vrensen F, Van Noorden J et al. Vascular endothelial growth factors and angiogenesis in eye disease. *Prog Retin Eye Res*. 2003 22:1-29.

[19] Yiwen, Li. et al. Active immunization against the vascular endothelial growth factor receptor flk1 inhibits tumor angiogenesis and metastasis. *J. Exp. Med*. 195, 1575-1584, 2002.

[20] Niethammer, A.G. et al. A DNA vaccine against VEGF receptor 2 prevents effective angiogenesis and inhibits tumor growth. *Nature Med*. 8, 1369-1375, 2002.

[21] Ishizaki H, Tsunoda T, Wada S et al. Inhibition of tumor growth with antiangiogenic cancer vaccine using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 1. *Clin Cancer Res*. 2006;12:5841-9.

[22] Wada S, Tsunoda T, Baba T, et al: Vaccination using human vascular endothelial growth factor receptor 2 epitope peptides can induce potent and therapeutic immunoresponses *in vitro and in vivo*. *Cancer Res*. 65, 4939-4946, 2005.

[23] Mochimaru H, Nagai N, Hasegawa G et al. Suppression of choroidal neovascularization by dendritic cell vaccination targeting VEGFR2. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48:4795-801.

[24] Date Y, Kimura A et al: DNA typing of the HLA-A gene: population study and identification of four new alleles in Japanese. *Tissue Antigen*, 47, 93-101, 1996.

厚生労働科学研究費補助金（難治性疾患克服研究事業）

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 白神 史雄
香川大学医学部眼科学教室 教授

【研究要旨】

血管新生黄斑症は黄斑部網膜下に脈絡膜新生血管の発生とそれに伴う浸出性の変化により、視細胞を中心とした網膜神経細胞が非可逆的に障害され高度の視力低下をきたす疾患群である。中でも加齢黄斑変性はわが国において患者数が急増し中途失明者の原因疾患の上位を占めるに至って早急な対策が望まれる。その他、近視性脈絡膜新生血管および特発性脈絡膜新生血管も黄斑下の脈絡膜血管新生により同様の視機能障害を来す。これらに対する標準療法としては現在のところ、抗 VEGF 療法が行われている。しかし、抗 VEGF 薬は 2 年間に約 10 回の硝子体投与が必要であり、これが患者の身体的、経済的負担となっている。（硝子体投与においては一定の頻度での発生が避けられず、失明も十分に考えられる眼内感染といった重篤な眼合併症が存在する。）我々は大阪大学で行われた探索的研究の結果を踏まえ、「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」を開始した。本試験は通常抗 VEGF 薬による導入ののち、VEGFR1 もしくは VEGFR2 由来の HLA 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療法を行うことにより、以後維持期に必要な抗 VEGF 薬の硝子体投与の回数を減らすことを目的とした試験である。本試験において使用するペプチドワクチン療法を用いた第 I 相試験（従来療法無効例に対するもの、大阪大学にて施行）において、17 例の症例に投与したが重篤な副作用を認めず、また、視力維持に関しては従来療法よりも有効性があると考えられた。現在、この「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」について倫理委員会の承認を得たうえ、予定通り患者に公開を開始している。

A) 研究目的

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 相臨床試験をおこなうこと。

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

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 相臨床試験の概要は以下のとおりである。

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。