

201128144A

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23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大路 正人

平成24（2012）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23年度 総括・分担研究報告書

研究代表者 大路 正人

平成24（2012）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 大路 正人	----- 1
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 辻川 元一	----- 9
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 白神 史雄 (資料) プロトコール (抄)	----- 15
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 高橋 寛二 (資料) プロトコール (抄)	----- 39
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	----- 59
IV. 研究成果の刊行物・別刷	----- 61

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

研究代表者 大路正人

滋賀医科大学眼科学講座 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滲出性の変化により、視細胞を中心とした網膜神経細胞群が不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の増加が著しく、早急な対策が望まれている。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、現在のところ抗 VEGF 療法が行われている。抗 VEGF 療法には Bevacizumab と一昨年市販された Ranibizumab（商品名ルセンティス）がある。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、一定の頻度で発生し、失明を来す可能性がある眼内感染といった重篤な眼合併症が存在するし、脳梗塞などの発症の危険性がある。）我々はいままで「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 I 相臨床試験」をおこない、その安全性を確認するのとともに、有効性についても示してきた。本年度以降はさらに「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」に進んで、有効性を証明することを目的としている。本試験は通常の抗 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滲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、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。本研究反において、現在 Vaccine 群 2 名 2 眼、Control 群 1 名 1 眼の情報を収集している。また、これらの結果から、A2402 においては企業主導型治験が実施されることとなり、本治療は大きく実用化に向けて前進した。

【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)

A. 研究目的

(ア) 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。

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 拘束性エピトープ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, A*0201 群に対してはこれと同時に、ペプチドそれぞれを 1mg ず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) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エポープペプチドによる維持療法第 II 相臨床試験

滋賀医科大学付属病院倫理委員会にプロトコルの倫理承認を申請し承認を得た。予定通り現在患者に公開、すでに投与を開始している。

滋賀医科大学においては第 II 相試験には現在までに 1 例 1 眼が同意を得て、HLA 検査の結果 A0201 が一致し参加可能となり、ワクチン投与を開始した。原因疾患は加齢黄斑変性であった。加齢黄斑変性の標準治療であるラニビズマブの硝子体注射を 3 回連続投与を開始するとともにワクチン投与を行った。本症例は 7 カ月の観察が可能であったが、その間にラニビズマブ硝子体注射に関しては導入期の 3 回の投与と維持期の 5 カ月の間に 1 回の追加投与を行った。ワクチン投与に関しては合計 11 回のワクチン投与を行ったが、投与開始 6 か月目に網膜下出血による視力低下が生じ、患者との相談の結果ワクチン注射はその時点で中止となった。本症例において

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。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、腫脹を認められたが、許容範囲であった。眼合併症は報告されなかった。

眼底の変化に関しては、治療開始から 2 か月間は安定していたが、その後網膜下出血の出現をみた。新生血管事態の活動性を表す網膜下液や網膜浮腫は軽度で推移していたが、投与開始から 6 か月目に黄斑にかかる網膜下出血と網膜色素上皮剥離を生じた。

視力への影響であるが、眼底が比較的安定していたために、投与開始から 5 か月目までは 0.7 - 0.8 の良好な矯正視力を維持していたが、6 か月目の黄斑下出血のために 0.2 まで低下した。

D. 考察

ラニビズマブの導入期の 3 回の硝子体注射後も比較的安定しており、維持期に入り 4 か月の間にラニビズマブの追加治療を要しなかったことはワクチンの効果を示している可能性がある。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

論文発表

1. Niwa Y, Sawada O, Miyake T, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ohji M. Comparison between One Injection and Three Monthly

- Injections of Intravitreal Bevacizumab for Myopic Choroidal Neovascularization. *Ophthalmic Res* 2011 Oct 25;47(3):135-140 . [Epub ahead of print]
2. Tano Y, Ohji M, EXTEND-I Study Group. Long-term efficacy and safety of ranibizumab administered pro re nata in Japanese patients with neovascular age-related macular degeneration in the EXTEND-I Study. *Acta Ophthalmol.* 2011 May;89(3):208-17. Epub 2011 Jan 14.
 3. Sawada O, Miyake T, Kakinoki M, Sawada T, Kawamura H, Ohji M. Negative Correlation between Aqueous Vascular Endothelial Growth Factor Levels and Axial Length. *Jpn J Ophthalmol.* 2011;55:401-404. May 24. [Epub ahead of print]
 4. 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.* 2011 Aug;89(5):459-62. doi: 10.1111/j.1755-3768.2009.01717.x. Epub 2010 Jan 22.
- 学会発表
1. 澤田智子、澤田修、柿木雅志、三宅 太一郎、川村肇、西信良嗣、大路正 人 ポリープ状脈絡膜血管症に 対する PDT 単独、ラニビズマブ単独、 併用療法の比較 第 50 回日本網膜 硝子体学会 東京 2011 年 12 月 2-4 日 (ア)
 - 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

II. 分担研究報告書

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 辻川元一
大阪大学医学部眼科学講座 助教

【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滲出性の変化により、視細胞を中心とした網膜神経細胞群が不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の増加が著しく、早急な対策が望まれている。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、現在のところ抗 VEGF 療法が行われている。抗 VEGF 療法には Bevacizumab と一昨年市販された Ranibizumab（商品名ルセンティス）がある。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、一定の頻度で発生し、失明を来す可能性がある眼内感染といった重篤な眼合併症が存在するし、脳梗塞などの発症の危険性がある。）我々はいままで「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 I 相臨床試験」をおこない、その安全性を確認するとともに、有効性についても示してきた。本年度以降はさらに「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」に進んで、有効性を証明することを目的としている。本試験は通常の抗 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滲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、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。党员倫理委員会の承認を得たうえで、現在 Vaccine 群 1 名 1 眼、Control 群 1 名 1 眼の経過を観察している。

A. 研究目的

(ア) 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) 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

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) 新生血管黄斑症に対する VEGFR を標的とした HLA 拘束性エペ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倫理委員会にプロトコールの倫理承認を申請し

承認を得た。予定通り現在患者に公開、投与を開始した。現在までに2例2眼において同意を得たが、一例はHLA タイピング採血直前に患者より中止要望があったため組み入れをしなかった。もう一例はHLA タイピングの結果HLA2402であったためワクチン投与となった。もう一例については、コントロール群となった。両名とも原因疾患は加齢黄斑変性であった。

ワクチンを投与することになった一例に対しては加齢黄斑変性の標準治療であるラニビズマブの硝子体注射を3回連続投与を開始するとともにワクチン投与を行った。本症例は13カ月の観察が可能であったが、その間にラニビズマブ硝子体注射に関しては導入期の3回の投与と維持期の9カ月の間に5回の追加投与を行った。ワクチン投与に関しては2週ごとに現在も投与中である。本症例において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。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、腫脹をわずかに認める程度であった。また、眼合併症は報告されなかった。

眼底の変化に関しては、治療開始から現在まで、ラニビズマブの追加投与も行っていることもあるが、極めて良好で0.9の良好な矯正視力を維持しており（術前0.8）、かつ滲出性の変化は最小限にとどまっている。

また、コントロール群となった症例は6か月の経過期間で導入期3回、観察

期2回のラニビズマブ投与を行った。ただし本性例は術前0.8の矯正視力は0.6に低下した。

D. 考察

今回、前年度の第I相試験に続き、抗VEGFRワクチンの第II相試験を開始した。前回は標準療法不応例に対するものであったのに対し、今回は初回治療に用いるものであり、臨床的意義は高い。現在のところは比較が難しいが、少なくとも投与眼については視力予後は非常に良いものであるため、期待できるものと考えられる。また、これまで、我々が行ってきたI相、II相試験の結果より、来年度はA2402に対するものに関して企業主導型のI/II相試験が行われることが決定し、すでに現時点で治験届が提出されている。これにより当ワクチン治療は実用化に向け大きく前進し、我々が行っているトランスレーショナルリサーチ（医師主導型治験）は一定の役割を果たしたと考えられる。

E. 健康危険情報

なし

F. 研究発表

論文発表

1. Tsujikawa M. Gelatinous Corneal Dystrophy. Cornea 2012 in press
2. Suzuki M, Tsujikawa M, Itabe H, Du ZJ, Xie P, Matsumura N, Fu X, Zhang R, Sonoda KH, Egashira K, Hazen SL, Kamei M. : Chronic photo-oxidative stress and subsequent MCP-1 activation as causative factors for age-related macular

degeneration . J Cell Sci. in press.

3. Tsujikawa M, Nishida K, Regenerative medicine in cornea. Nihon Rinsho. 2011 69 :2235-40

4. Sasamoto Y, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Nishida K. Effect of 1-year lutein supplementation on macular pigment optical density and visual function. Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol. 2011 249:1847-54.

5. Wakabayashi T, Gomi F, Sawa M, Tsujikawa M, Nishida K. Intravitreal bevacizumab for exudative branching vascular networks in polypoidal choroidal vasculopathy. . Br J Ophthalmol. 2012 96:394-9

学会発表

1. Motokazu Tsujikawa, Miki Sawa,

Yasushi Ikuno, Fumi Gomi, Kohji Nishida, Kohji Yoshida, Tatsuya Tsunoda, Yusuke Nakamura Phase I Clinical Trial of Anti-VEGFR Vaccine Therapy for Neovascular Maculopathy American Academy of Ophthalmology Annual Meeting 2011, Oct 23, 2011 Orlando, Fl, USA

2. 辻川元一、沢美喜、五味文、大路正人、白神史雄、高橋寛二、西田幸二：加齢黄斑変性に対する HLA*A 拘束性抗 VEGFR ワクチン療法、第 65 回日本臨床眼科学会、平成 23 年 10 月 7 日、東京

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

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講座 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不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の増加が著しく、中途失明者の原因疾患の 4 位になり、早急な対策が望まれている。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、現在のところ抗 VEGF 療法が行われている。抗 VEGF 療法には Bevacizumab と一昨年市販された Ranibizumab (商品名ルセンティス) がある。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、一定の頻度で発生し、失明を来す可能性がある眼内感染といった重篤な眼合併症が存在するし、脳梗塞などの発症の危険性がある。) 我々は「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」を本研究の内容として企画している。本試験は通常の抗 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滲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、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、大阪大学にて本研究の一環として施行）において、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。これを踏まえ、当科では「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」について香川大学医学部倫理委員会の承認をえて、予定通り患者に公開を開始しワクチン投与の準備を行ったが、本研究期間中には患者登録に

至らなかった。

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 angiography 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

血管新生黄斑症で今後、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