

## (資料 2)

### 未承認ワクチンのニーズ： ワクチンの輸入実績と当院における輸入ワクチン導入後の状況

研究協力者：渡邊浩（久留米大学医学部感染医学講座）

#### 研究要旨

久留米大学病院では 2007 年 4 月より海外旅行外来を開設し、渡航国別の感染症流行状況、治安状況などの情報提供、ワクチン接種、高山病およびマラリアの予防薬処方、英文診断書の作成等の業務を行っている。受診者数は年々増加していたが、特に 2011 年以降腸チフス、髄膜炎菌および A 型肝炎、狂犬病ワクチンなどの輸入ワクチンの接種を開始して以来受診者が急増し、2012 年度は延べ 2000 人以上が受診した。輸入ワクチン導入後の受診者の約 3 割は県外から受診しており、県内でも遠方からの受診者が多く占められていた。輸入代行業社（2 社）のワクチン輸入実績では、A 型肝炎、狂犬病、髄膜炎菌および腸チフスワクチンの輸入本数が多く、毎年増加傾向が認められた。以上より国内未承認の輸入ワクチンのニーズは増加傾向にあり、渡航者の海外渡航時のワクチンに対する認識が変化してきていることが示唆された。

#### A. 研究目的

現在、我が国では海外で通常に使用されているワクチンの多くが国内で未承認であり、狂犬病ワクチンや A 型肝炎ワクチンなどの国産ワクチンの品薄が慢性的に持続している、ワクチンを接種できる医療機関が十分に整備されていない、また海外渡航者に対するワクチンの必要性の啓発が十分にできておらず、渡航者が海外ほど積極的にワクチン接種を行わないなどの問題があり、海外渡航者のためのワクチン接種の環境が十分に整っているとは言えない状況である。我々は国内未承認の輸入ワクチンに関して以下の検討を行なった。

#### B. 研究方法

2007 年 4 月より海外旅行外来を開設した久留米大学病院の外来受診者数の推移およ

び 2011 年以降、腸チフス、髄膜炎菌および A 型肝炎、狂犬病ワクチンなどの輸入ワクチンの導入後の外来受診者の居住地域の調査を行った。また、輸入代行業社（2 社）の 2010, 2011, 2012 年度のワクチン輸入実績についても調査した。

#### C. 研究結果

久留米大学病院では 2007 年 4 月より海外旅行外来を開設し、海外渡航を前提としないワクチン接種も受け入れるようになったため、2011 年 1 月海外旅行・ワクチン外来へ名称変更し、2011 年 1 月以降腸チフス、髄膜炎菌および A 型肝炎、狂犬病ワクチンなどの輸入ワクチンの接種を開始した。受診者数は年々増加していたが、特に 2011 年以降腸チフス、髄膜炎菌および A 型肝炎、狂犬病ワクチンなどの輸入ワクチンの接種

を開始して以来受診者が急増し、2012年度は延べ2,000人以上が受診した（図1）。

輸入ワクチン導入後の受診者の約3割は県外から受診しており、県内でも遠方からの受診者が多く占められていた（図2）。

輸入代行業社（2社）のワクチン輸入実績では、A型肝炎、狂犬病、髄膜炎菌および腸チフスワクチンの輸入本数が多く、毎年増加傾向が認められた（図3,4）。び腸チフスワクチンの輸入本数も多く、毎年増加傾向が認められた（図3,4）。

#### **D. 結論および考察**

本研究の結果より、国内未承認の輸入ワクチンのニーズは増加傾向にあり、渡航者の海外渡航時のワクチンに対する認識が変化してきていることが示唆された。

図1. 久留米大学病院海外旅行・ワクチン外来受診者数の推移

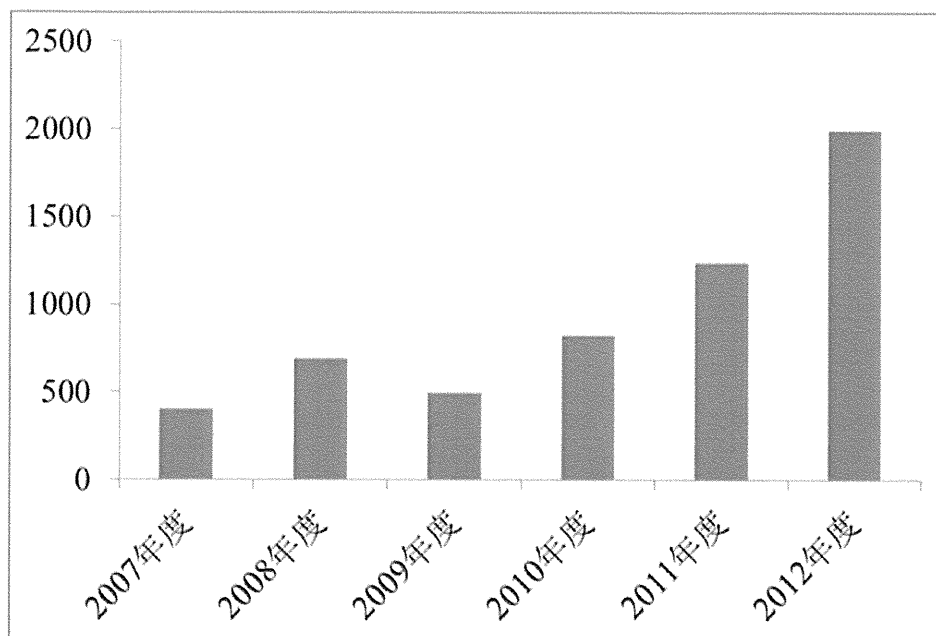


図2. 久留米大学病院海外旅行・ワクチン外来受診者の居住地域 (2011.1.1 - 2012.12.31)

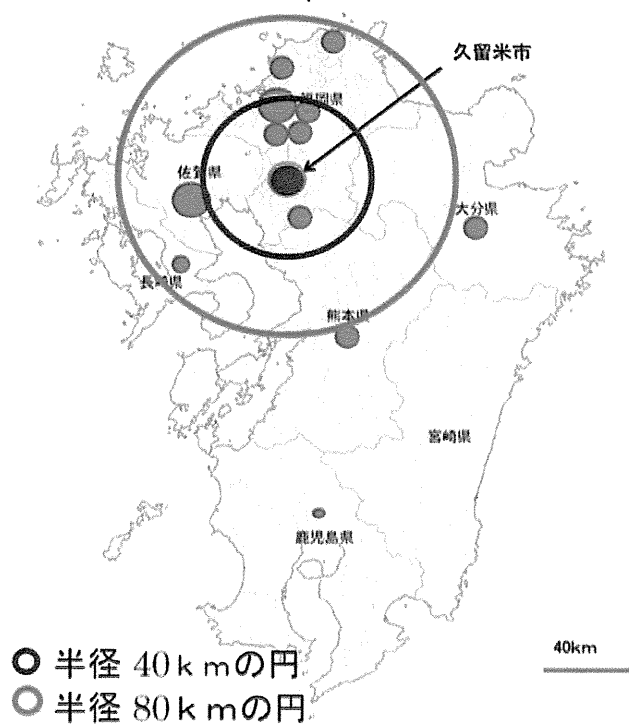


図3. 輸入代行業社1のワクチン輸入実績

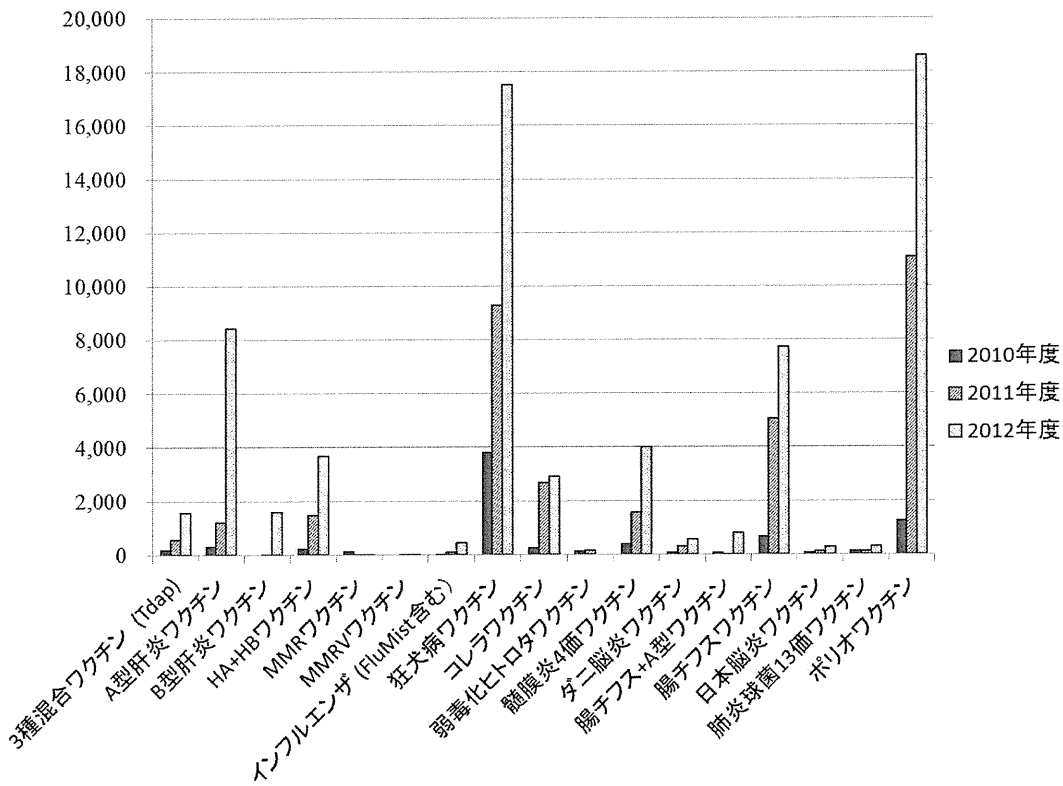
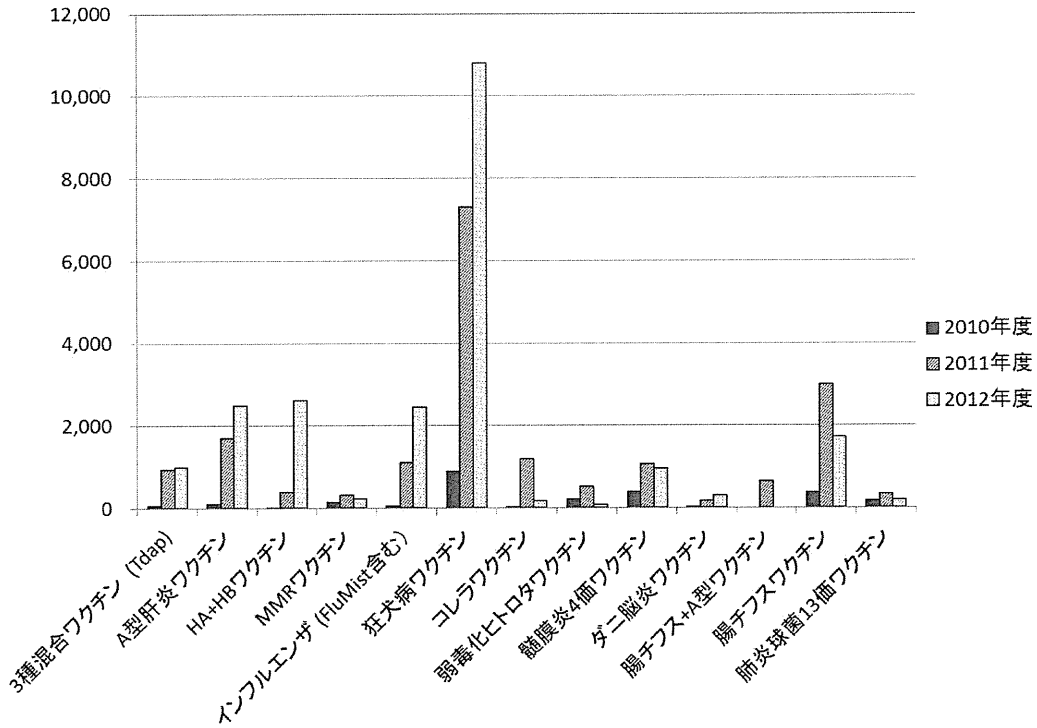


図4. 輸入代行業社2のワクチン輸入実績



厚生労働科学研究費補助金（厚生労働科学特別研究事業）  
分担研究報告書

## がんワクチンの有効性評価手法に関する研究

研究分担者 山口照英 国立医薬品食品衛生研究所 研究員

### 研究要旨

がんワクチンの開発が急速に進んでいるが、がんワクチンは従来のがん化学療法と大きく異なる作用メカニズムで臨床効果を発揮すると考えられる。そのために、がんワクチンに特化した臨床評価が必要とされている。

本年度は、がんワクチンの臨床評価や品質に関して次のような点を明らかにした。

1) がんワクチンはこれまでの抗がん剤や腫瘍抗体医薬品とは異なり生体の免疫防御システムを活性化することにより抗腫瘍効果を発揮しようとする新たなコンセプトに基づく製品である。NIH Clinical Trial に記載されているがんワクチンプロトコール等の情報より、がんワクチンによって惹起される抗腫瘍免疫反応を評価するために種々の免疫評価指標が用いられていることを明らかにしたが、がんワクチン開発においてはこれらの免疫指標とがん治療における有効性指標との相関を明らかにすることにより効率的ながんワクチン開発に寄与することが期待される。

2) わが国でも多くのがんワクチンの臨床研究が実施されており、また医薬品としての開発を目指した動きも活発である。本研究の成果によりがんワクチンの開発において目指すべき指標について情報提供ができ、より合理的ながんワクチンの開発が可能になると期待される。

### 協力研究者

川崎ナナ 国立医薬品食品衛生研究所・部長  
矢原一郎 元東京都臨床医学総合研究所・副所長  
河野典厚 医薬品医療機器総合機構・部長  
野中孝浩 医薬品医療機器総合機構・審査役  
井口豊崇 医薬品医療機器総合機構・審査役  
秦 利幸 医薬品医療機器総合機構・審査官  
朝倉 渡 医薬品医療機器総合機構・審査官  
甘粕晃平 医薬品医療機器総合機構・審査官

### A. 研究目的

近年患者自身の免疫能を賦活化することにより抗腫瘍効果を発揮させる治療法が開発されつつある。樹上細胞の機能をはじめ、がんに対する基礎的研究の進展やがんによる免疫抑制効果についての解析が進むと共に、強力な腫瘍免疫法が開発されがん免疫療法に期待が持てる成果が得られ始めている。

米国 NIH の臨床研究ウェブサイトによると既に 1000 を超えるがん免疫療法が登録されており、年々増加の一途に至っており、ペプチドワクチンをはじめ、タンパク質、組換えウイルスなど多様

な製品を複雑に組み合わせた治療もおこなわれている。それぞれの製品の製法や特性解析、品質管理などは各種ガイドラインや指針に従った解析や管理が求められると考えられるが、非臨床試験や臨床試験では、安全性や有効性の評価において様々な課題が存在する。

本研究は、種々のがんワクチンを用いたがん免疫治療における、臨床試験での評価項目を中心に、品質、非臨床試験において考慮すべき事項について解析した。抗腫瘍免疫反応の誘導や増幅に関する評価手法やがんによる免疫抑制作用からの解除の手法やその評価について様々な試みが行われており、患者での免疫応答性と臨床的有効性との相関を明らかにすることが重要である結論された。これらの成果から、がんワクチンガイドラインに取り込むべき要素について明らかにすると共に、がんワクチンガイドライン作成のための素案を提示した。

### B. 研究方法

2013 年時点で、がんワクチンの臨床開発を目指して NIH Clinical Trial のウェブページに 1293

の臨床プロトコールが掲載されている。これらのプロトコールでは、ペプチド/タンパク質を用いた開発のみならず、糖脂質を用いた開発、さらには細胞治療、遺伝子治療として分類される臨床開発が行われている。また併用薬としてもアジュバント、核酸医薬、低分子化学医薬品など様々な取り組みが行われている。

さらに治療レジメンに関しても多岐にわたっている。このような現在実施されている臨床プロトコールの解析を行うと共に、FDA のがんワクチンガイドラインや公表文献等も含め調査の対象とした。

また、患者での免疫応答性を評価する国際的な標準化プロジェクトから出された T 細胞のバイオアッセイガイドライン (Minimal Information about T Cell Assays (MIATA) ガイドライン) の有用性についても取り上げた。

## C. 研究結果

### C-1. がんワクチンの臨床プロトコール

米国 NIH の NIH Clinical Trial ウェブページには 2013 年現在で 1293 のがんワクチンプロトコールが掲載されている (資料 1)。がん抗原ペプチド、がん抗原タンパク質、がん抗原ペプチドとキャリアータンパク質との融合タンパク質、がんによく発現する糖脂質、糖鎖抗原、患者がん細胞やがん細胞由来株化細胞とこれらのがん細胞にさらにベクターやがん細胞由来 mRNA を導入することにより種々のがん抗原を発現するように改変を行った細胞、がん抗原発現ウイルスベクターなどの抗原刺激を与えるようにするプロトコールが行われている。さらには、樹状細胞にインビトロでがん抗原を暴露させ、患者に戻す治療やこれらの様々な製品を複数組合わせた療法の開発も行われている。また、単一の抗原のみならず複数の抗原をカクテルとして患者に投与したり、がん由来ペプチドをウイルスベクターやプラスミドなど異なる方法で患者に投与する試みが行われている。

またペプチドをスーパー抗原と結合させたりがん抗原タンパク質をリポソームなどに封入することにより免疫応答性を高める製剤の開発も行われている。キャリアータンパク質が用いられるケースでは、キャリアータンパク質に対する免疫応答性を評価し、がんによる免疫抑制からどの程度回復しているのかの解析も平行して行われることがある。

がんワクチンの投与量や投与スケジュールにつ

いても多様な手法が開発中である。1-2 ヶ月に数回の投与から、3-4 年といった長期にわたる投与を行うプロトコールも試みられている。それに応じて、数ヶ月から半年での評価ポイントとするプロトコールから非常に長期にわたるエンドポイントの設定も行われている。

主とした有効性を示唆する免疫応答性の評価項目としては、細胞傷害性 T 細胞やヘルパー T 細胞の増減をテトラマーアッセイや ELISPOT アッセイ、サイトカイン産生能をフローサイトメトリーで解析する方法など複数の方法で解析されている。また、免疫応答性の強度を遅延型アナフィラキシー反応で評価したり抗原に対する液性免疫で評価する手法も用いられている。この場合の液性免疫の応答性はがん患者の免疫応答性の代替評価法という性格が見られる。

一方でがん患者はがん細胞から出される様々な因子等により免疫抑制状態に陥りやすいことが指摘されており、そのために担がん状態により免疫抑制からの解除を目指す併用療法が同時に行われることが多い。例えば適当な濃度のサイクロヘキシミド (CHX) 投与により抑制性 T 細胞 (Treg 細胞) を抑制されることを利用し、CHX ががんワクチンと同時に投与している場合がある。また、Treg 細胞の分化に必要とされる TGF- $\beta$  に対するアンチセンス核酸や siRNA が同時に投与される場合もある。さらに、Treg 細胞に特定的に発現する CTLA-4 に対するモノクローナル抗体や免疫細胞の抑制性シグナル伝達に関与する PD-L1/PD-1 に対するシグナル遮断抗体などの同時投与も試みられている。それ以外にも免疫抑制系に関与するシグナル分子の抗体の開発が精力的に進められている。

これらの免疫抑制系を遮断するために様々な併用薬の投与と共に、免疫抑制状態からの評価も行われている。Treg 細胞の活性化状態に関しては、末梢血中の Treg 細胞数や Treg 細胞のサブタイプの解析、さらには腫瘍内に浸潤している Treg 細胞数やそのサブタイプ解析が行われている。また、特異抗原に対する免疫応答性のみならず、がんには関連しない非特異的な標準抗原に対する免疫応答性とした遅延型アナフィラキシー応答性の評価も行われている。

対象とするがん種としても、非小細胞肺癌、頸頭部がん、前立腺がん、すい臓がん、腎がん、メラノーマ、脳腫瘍、グリオーマなどの固形がんのみならず、リンパ腫や骨髄性白血病など、多岐

にわたるがん種が対象とされている。

免疫賦活化剤として顆粒球マクロファージコロニー刺激因子 (GM-CSF) を始めインターフェロン $\gamma$ やインターロイキン2 (IL-2) といった免疫活性化サイトカインや、脂溶性アジュバントやトールライク受容体 (TLR) 活性化核酸などの併用が実施されている。

初期臨床試験の評価項目としては最大耐用量 (MTD) や局所刺激性などの安全性が評価されている。上記したような免疫応答性の評価と共に、後期の臨床試験での評価項目をデザインするための試験が実施されている。臨床的有効性の評価項目としては無増悪生存期間 (progression-free survival; PFS) や全生存期間 (overall survival: OS)、完全奏効 (complete response; CR) 部分奏効 (奏効率 partial response; PR) などが解析されている。一方で、がんワクチンの特性から全腫瘍量や腫瘍縮小などを腫瘍評価項目にするケースは少ないが、CT スキャンあるいはMRI を用いた腫瘍量の評価も実施されている。

## C-2. がんワクチンの有効性を予測可能なPD マーカーの設定について

がん免疫療法の中でもがん特異的抗原やがん関連抗原を様々な方法で患者に投与することにより、抗腫瘍効果を期待する医薬品の開発が進められている。これらには、がん特異ペプチドの投与や、がん細胞免疫療法、遺伝子治療の手法を用いるものなど、様々な療法に分類され、一般にはがんワクチンと称されることが多い。また、がん特異抗原が特定されている場合や、がん細胞の投与のように必ずしもがん抗原が特定されていない場合もある。これらのがん免疫療法において、患者の延命効果やQOLの改善といった患者にとって有用なエンドポイントの他に、従来のがん治療における有効性の補助マーカーとしてがんの退縮やがん細胞の長期にわたる不変を代替マーカーとすることも提案されてきている。

しかし、がんワクチンを用いた療法では、投与後に一時的にがんの増大が起こることや腫瘍組織そのものの大きさは不変であるものの臨床上の有効性が認められることもあるとの報告もある。従って従来のがん代替マーカー (surrogate marker: PD マーカー) に代り、がんワクチンとしての有効性を予測可能なPD マーカーを設定することにより、より合理的に臨床開発が可能ではないかとされて

いる。

がんワクチンの有効性を予測可能な臨床指標として、がん抗原を認識できる免疫担当細胞が十分な数だけ患者に見いだされることやこれらの免疫細胞ががん組織に浸潤できる能力を有していること、さらには、免疫細胞ががん細胞を溶解したり、がん細胞を溶解させるのに必要なサイトカイン等を分泌する能力を有していることを立証することとされている。古くからこのような作用の一つとして、抗原特異的な刺激に応答したリンパ球の増殖を3H-チミジンの取り込みを指標として測定したり、あるいはがん細胞あるいはがん抗原を発現しているターゲット細胞の殺細胞効果を51Cr リリースアッセイにより測定することが行われてきた。しかし、これらインビトロ試験に用いるターゲット細胞やエフェクター細胞の標準化が困難であり、さらに測定日の異なる結果を絶対評価することが困難であり、より標準化できる解析手法が必要とされてきている。

がんワクチンの有効性を予測可能な指標として3H-チミジンアッセイや51Cr リリースアッセイに代わるいくつかの試験法が開発され、広く利用されつつある。本稿では、これらの試験法の特徴とその利用に際しての留意点を示す。

(1) クラス I あるいはクラス II の MHC ポリマーを用いた抗原特異的細胞傷害性 T 細胞 (CTL) あるいは抗原特異的 CD4+ 細胞の定量

(1) MHC-class I/がん特異的ペプチド複合体の4量体やポリマーを用いた細胞障害性 T 細胞 (CTL 細胞: CD8 陽性 T 細胞) の検出:

ウイルス感染細胞やがん細胞の除去に免疫学的に重要な役割を担っている細胞傷害性 T 細胞 (Cytotoxic T lymphocyte: CTL) は、そのほとんどが CD8 陽性 T 細胞であり、MHC クラス I 分子と結合した抗原ペプチドを認識し、標的細胞を特異的に攻撃、排除するとされている。この MHC 主要組織適合遺伝子複合体のクラス I 分子は、 $\beta 2$  ミクログロブリンと HLA のクラス I 領域にコードされている  $\alpha$  鎖から構成されており、HLA-I 分子上に抗原ペプチドを提示することが出来る。さらに、CD8+ の CTL は HLA-I 分子に結合したがん抗原ペプチドを T 細胞受容体 (TCR) が認識し、刺激を受けた抗原を発現している標的細胞を攻撃するようになる。抗原が特定されたがんワクチンの臨床試験評価では、がんワクチンの接種により増加するがん抗原特異的 CTL ががん細胞を攻撃すると想定されており、特異ペプチドを結合した

HLA class-1 複合体を用いて、その血中の抗原特異的CTL数を測定することがPDマーカーとなると考えられる。

しかし、MHC Class-1/ペプチド複合体は、単量体ではTCRへの結合親和性が低いために、抗原特異的なCTLの検出にHLA class-1/ペプチド複合体を利用するには、HLAの多量体化が必要とされている。すなわち、がん特異的なペプチドとMHC-class1ポリマーを作製し、さらにそのペプチドポリマー複合体を蛍光標識したものを用いて、フローサイトメーターによりCD8陽性でかつポリマーとの結合能をもつ陽性ゲートのT細胞数を測定することにより、抗原特異的CTL数を算出する。さらに、蛍光標識されたMHC Class-1/ペプチド複合体は、CTLの特異的T細胞受容体(TCR)との結合能を有するが、一方でMHCはCD8とも非特異的に結合する性質があるために、特異結合を抑制する必要があるとされている。このために非特異的なHLAの結合部位に変異を導入する方法も考案されている。

### (2) MHC-class2/がん特異的ペプチド複合体の4量体を用いたヘルパーT細胞(CD4陽性)の検出

クラス2分子は、HLAのクラスII(HLA-2)領域にコードされる $\alpha$ 鎖と $\beta$ 鎖から構成されており、HLA-DR、DQ、DPがある。ヘルパーT細胞は、HLA-2分子に結合した抗原ペプチドを、TCR/CD3複合体が認識し、同時に抗原提示細胞の補助刺激分子(インテグリンリガンド;CD86)を補助受容体が(CD28)が認識することにより抗原特異的な活性化が起こる。抗原刺激によって活性化された抗原特異的ヘルパーT細胞は、CTLの活性化のみならずがん組織への浸潤にも必要とされていることから、血中における抗原特異的ヘルパーT細胞の濃度を測定することにより、がんワクチンの有効性を予測可能な指標となるとされている。

抗原特異的ヘルパーT細胞の測定では、CTLと同様にMHC Class-2とペプチド複合体の4量体やポリマーに蛍光物質で標識し、患者由来血液細胞等と反応させ、同時に蛍光標識したCD4抗体とのダブルラベルを行い、CD4陽性でかつMHC Class-1/ペプチドの反応性の細胞をフローサイトメーターにて定量する。測定ではMHC Class-2/ペプチド複合体ポリマーとの非特異反応性を排除することである。

### (3) 特異的抗原刺激によって活性化されたCD4+

またはCD8+T細胞数のELISPOTによる計測、あるいは細胞内サイトカイン染色による解析

がん抗原特異的に反応するCD4陽性やCD8陽性細胞を測定するもので、Enzyme-Linked ImmunoSpot (ELISPOT)では、特異抗原刺激によりこれらのT細胞が産生するインターフェロン $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )の産生を測定するものである。IFN- $\gamma$ はCD4、CD8、NK細胞などが産生するサイトカインであり、炎症免疫反応の調整に関与すると考えられ、抗原刺激を受けたこれらの細胞の反応性を検出することが可能とされる。産生また、細胞内サイトカインアッセイでは、抗原刺激によりT細胞我が活性化され産生するサイトカインを細胞内に蓄積させサイトカイン陽性細胞を定量するものである。

#### (3-1) ELISPOT アッセイ

がんワクチンの投与を行った患者末梢血より白血球を分離し、リンパ球層あるいは、CD8やCD4細胞を分離して、一定期間抗原刺激を与えながら培養を行う。その際、培養プレートを抗IFN- $\gamma$ コートとしておき、T細胞が産生するIFN- $\gamma$ をトラップ可能としておく。所定の培養期間を経過した後、T細胞やリンパ球を除去した後、トラップしたIFN- $\gamma$ 量を酵素免疫反応により検出する。細胞から産生されるIFN- $\gamma$ は培養プレートにコートされた抗IFN- $\gamma$ により効率よくトラップされ、IFN- $\gamma$ 産生細胞が存在した部位のみがプラーク状に染色される。この染色パターンからIFN- $\gamma$ 産生細胞量の推定が可能となる。培養プレートのスポットとして検出されるために、定量範囲がそれほど広がらないが、機器を用いなくても解析可能な測定法である。

#### (3-2) 細胞内サイトカインアッセイ

細胞内サイトカインアッセイは、ELISPOTと同様にがん抗原特異的なT細胞の機能情報に着目したアッセイ法である。抗原刺激に応答して、CD4細胞やCD8細胞が産生するサイトカイン(インターロイキン2; IL-2)を産生するが、そのIL-2再生している細胞を特異的に染色する。このために、MonensinやBrefeldin-Aなどの細胞内タンパク質輸送を阻害する薬剤を用いて抗原刺激を行い、細胞内に蓄積されたIFN- $\gamma$ やIL-2を膜透過処理を行ったうえで蛍光免疫染色により検出する。同時に、CD4及びCD8抗体を用いて蛍光免疫染色し、CD4陽性/IL-2陽性、あるいはCD8陽性/IL-陽性の細胞をフローサイトメーターにより解析する。



細胞内サイトカインアッセイの特徴は、抗原刺激による機能（サイトカイン産生）を測定できるだけでなく、CD4 と CD8 陽性の細胞を同時に測定することも可能とされている。

#### （４）がんワクチンによって誘導される抗原特異的 T 細胞の PD マーカーとしての測定法の確立における留意点

HLA-class1 あるいは HLA-class2/がん特異ペプチド複合体のポリマーと反応性を有する CTL あるいは CD4 陽性 T 細胞の測定や、がん抗原特異的なサイトカイン産生細胞を検出する細胞内サイトカインアッセイはいずれもフローサイトメーターを用いることになる。フローサイトメーターの測定では、各細胞の蛍光強度は相対的な値での表示であるため、同日に測定された検体以外の検体との比較や経時的な変化を追うためには、フローサイトメーター機器の最適化と、陰性及び陽性コントロールの設定が重要となる。

特にフローサイトメーターを用いたアッセイでは陽性と陰性細胞を明確に区別するために、標準ビーズ等を用いて最適な感度の設定や適切な補正を行うことが必要である。検出器の陰性コントロールのためのゲートの設定では、非染色細胞や活性化刺激を与えない細胞を陰性コントロールして用いることがカットオフ値の設定で有用な場合が多い。あるいは、蛍光標識していない抗体あるいは HLA/ペプチドポリマーを用いて同様の標識反応を実施し、陰性対照とすることも良いとされる。いずれの陰性細胞コントロールを用いるにしても、陰性と陽性のゲーティングが適切に行えるような最適条件に設定することが必要となる。フローサイトメーターによる測定では、標識に複数の蛍光色素を用いることによる蛍光のオーバーフローや標識抗体等の非特異的吸着による測定への影響がないか十分に検討しておく必要がある。さらに、一連の測定を通じて陰性と陽性のカットオフ値を注意深く設定することにより、測定の標準化を行っておく必要がある。このような標準化により臨床的に重要な変化を適切にとられることが可能になる。

細胞を用いたアッセイでは、患者からの採取直後に試験を行うことが困難な場合や輸送が必要な場合に細胞の適切な保存が必要となる。輸送や解析まで一定期間の保存を行う場合、設定した保存条件のバリデーションを行っておく必要がある。特に、がんワクチン臨床試験におけるがん抗原特

異的な CTL や CD4 陽性細胞の抗原との反応性を正確に測定するためには、細胞の抗体等との反応性のみならず適切な抗原刺激に対する反応性が十分に担保される保存条件が必要とされることから、保存温度、保存培地（保存凍結培地）、凍結を行う場合には凍結及び解凍条件などががん特異ペプチド複合体のポリマーとの反応性や細胞内サイトカイン産生試験へ及ぼす影響についてバリデーションを行っておく必要がある。バリデーションでは複数ロットの検体を用い、時間経過を追った反応性の変化や反応性の変動について明らかにする必要がある。

保存前に細胞の分離を行う場合には、分離条件の最適化のみならず、分離によって得られた細胞が目的とする試験を実施するために適切なポピュレーションであることを示す必要がある。そのためには採取した血液からの細胞の回収率などを評価しておく必要がある。

細胞内サイトカイン産生試験では、細胞を一定期間培養する必要がある。このために培養条件の最適化が必要である。特に血清を用いる場合には、血清による測定結果の変動についてあらかじめ評価を行っておく必要がある。無血清培養では、用いる培養液のロットによる変動を低くすることが可能と期待できる。また、各測定の変動を低減するために、細胞内サイトカイン産生能との相関性のあるパラメーター（生存率やアポトーシス細胞の限度値など）を明らかにし、試験法の標準化を行っておくことが望ましい。

ELISPOT アッセイでは、抗サイトカイン抗体をコートした培養プレートに細胞を播種し、産生したサイトカインの染色スポットをサイトカイン産生細胞のスポットと見なして計測することになるが、播種する細胞数の算定が誤差を生じる大きな要因の一つとなっている。自動計測や用手法のいずれを用いるにしても、血球細胞の希釈操作による誤差の発生や計測値からの死細胞数の除去等を含めて試験法の精度・再現性を評価しておくことが必要である。さらに、抗原刺激によって細胞が産生したサイトカインの陽性スポットを同定するために顕微鏡下ないしは自動イメージアナライザーを用いた計測が行われるが、陽性スポットの判定が最も誤差を発生する要因となるとされており、その変動要因をできるかぎり低減化し、試験法を最適化することが必要となる。いずれの判定方法を採用するにしても陽性スポットを判定するため

の明確な基準の設定が正確なデータを得るために非常に重要である。

ELISPOT アッセイでは、患者ないしは被験者から採取した血液の末梢血白血球そのものを用いる場合と抗原特異的にサイトカインを産生する細胞（例えば CTL）を分離して試験を実施する。末梢血白血球分画を用いる場合には、抗原特異的なサイトカイン産生細胞の特定が困難である。一方、抗原特異的に反応する細胞を用いる場合には、特異性は高いと期待できる一方で分離した細胞が患者血中での細胞ポピュレーションを反映していることを評価しておく必要がある。このために分離した細胞の回収率等を測定し、血中での抗原特異的 T 細胞ポピュレーションを反映していることをバリデーションしておくことが必要である。

ELISPOT アッセイにおいても、患者の血液を採取後、試験機関への輸送等のために一定期間の保存（凍結保存）が必要となることが多い。保存方法の妥当性は細胞内サイトカインアッセイと同様に評価することが必要となる。また解凍後、一定期間のプレ培養を行う場合にはその期間、培養条件等を最適化しておく必要がある。プレ培養は死細胞の除去に有用である可能性もあり、培養期間の設定において死細胞の除去についても評価しておくことが有用である。

#### （5）臨床試験データの解釈

HLA 抗原ペプチド複合体ポリマーとの反応性を有する CTL や CD4 陽性細胞数や細胞内サイトカインアッセイ、あるいは ELISPOT アッセイを PD マーカーとして試験を実施する場合には、陽性細胞（エフェクター細胞）数の経時的な変化を解析することになる。試験法の十分なバリデーションを実施した上で、抗原特異的な CTL や CD4 陽性細胞数を PD 試験のプライマリーエンドポイントとして用いることは可能と考えられる。得られたデータの解釈においては次のような点について十分考慮することも必要である。

ワクチン投与によって患者に抗原特異的な CTL 細胞や CD4 陽性細胞数の増加することが確認できれば、がんワクチンにより体内で特異的な T 細胞クローンの増幅がおこっていると解釈でき、腫瘍免疫反応による抗腫瘍効果（生存期間の延長、腫瘍組織の退縮効果等）が期待されることになる。また、複数の抗原を投与している場合にはいずれ

の抗原と反応するエフェクター細胞が増幅しているのかを明らかにすることが必要となる。一方で、がんワクチンにより増加したこれらの抗原特異的エフェクター細胞数の増加は、必ずしも抗腫瘍効果と相関しない場合もあり得ることを認識しておく必要がある。すなわち、強い免疫反応性が見られるにもかかわらず抗腫瘍効果が見られないこともあり得る。また、逆に免疫反応性が非常に弱いか PD マーカーとしては検出できないにも関わらず、抗腫瘍効果が認められる場合があることも考慮すべきである。

がんワクチンによる抗原特異的エフェクター細胞数の増加と抗腫瘍効果との相関性をより詳細に検討するために、末梢血中のエフェクター細胞の増加ばかりでなく、リンパ節や腫瘍内に浸潤したリンパ球を対象として抗原特異的エフェクター細胞の反応性を評価することも有用である。

#### （6）がんワクチンとして複数の抗原を用いる場合

複数の抗原たんぱく質／ペプチドを用いて腫瘍免疫を誘導する場合には、いずれの抗原に対する免疫反応が惹起されているのかを明らかにする必要がある。

#### （7）がん抗原の特異性が不明な場合

がんワクチンとして腫瘍溶解液や腫瘍細胞そのものを一定の処理を行って患者に投与することも行われている。このような腫瘍細胞等を用いた免疫では、必ずしも特定の抗原の寄与を明確にすることは困難な場合が多い。がん抗原が特定されないケースでは上記のような、抗原特異的な CTL や CD4 陽性細胞数を PD マーカーとして用いることは困難である。

#### （8）抗原のクロスプレゼンテーションの強度を測定する。

CD8 陽性細胞が外来抗原への応答性を誘導するための樹状細胞の抗原提示の特異的な機能であるクロスプレゼンテーションが、がんワクチンの効果を予測可能な指標となるとするものとされる。マクロファージや樹状細胞などの抗原提示細胞は、レセプターを介して抗原分子をとりこむと、リソソームで分解され、抗原特異ペプチドが MHC-クラス 2 分子に提示される。しかし、樹状細胞では MHC-クラス 1 分子にも提示することが可能であり、この抗原提示によりナイーブ T 細胞からの CTL の誘導が起こる。このクロスプレゼンテーションが解

析できればがんワクチンとしての免疫活性可能の評価に有用である可能性がある。

### C-3. FDA のがんワクチン臨床評価ガイドライン

FDA は 2011 年に業界向けガイダンスである「がんワクチン臨床評価ガイドライン」を発出した。このガイダンスの中で、現在開発されつつある多様ながんワクチンの臨床評価における考慮事項を示している。特に、がんワクチンの作用メカニズムから従来のがん化学療法の考えかたが必ずしも適切でないという観点から、臨床評価では従来と異なる考え方、対象患者の選択、観察期間が長期にわたることなどを説明している。

特にがんワクチンではがんに対する免疫応答には複数のステップが介在しており、臨床的効果が出てくるまで一定の期間が必要なこと、このために投与直後にはがんが増大する可能性があることが説明されている。このために従来のがん化学療法では試験の中止となるような腫瘍の増大があっても、病状が進行しなかつたり、あるいは生命維持に直接かかわる器官への転移が無ければ試験の継続が妥当とされること、従来のがん化学療法と異なる試験中止基準をがんワクチンの特性を踏まえて設定すべきとされている。さらに、患者の選択によっては治療効果が発揮されてくるまで長期にわたる期間が必要であることから対象をがん切除後の患者を選択する方が望ましいケースがあることなどが指摘されている。

さらに、化学療法が免疫抑制状態を引き起こす可能性があることなどから、がんワクチンと従来の化学療法とをどのようなタイミングで実施すべきかについても記載されている。一方で、最近がんによる患者の免疫抑制からの解除を目指した抗体医薬品の併用やサイクロヘキシミドなどの免疫抑制性の T 細胞を抑制する併用などが行われており、このような免疫抑制解除療法との併用については必ずしも十分な記載になっていないように考えられる。

以下に FDA のガイドラインの概略を記載する。

\*\*\*\*\*  
<FDA : 「がんワクチン臨床評価ガイドライン」>  
治療がんワクチンの臨床的考慮事項に関するガイダンス (FDA)

本ガイドラインは治療用がんワクチンの IND 申請を行う開発者のがんワクチン製品の治験におい

て推奨する臨床的な考慮点を示したものである。本ガイダンスは、第 I 相、第 II 相の臨床治験（初期臨床試験と称される）、及び第 III 相（後期臨床試験）での一般的な考慮事項のみならず、臨床開発の特定のステージで特に考慮すべき事項についても議論している。本ガイダンスは製造販売を目指した生物製剤の承認申請データをサポートするためデータ取得を目的とする IND 申請でのがんワクチンの臨床試験デザインにおいて推奨事項を示している。本ガイドラインは 2009 年 9 月に出されたガイドライン案を確定したものである。

本ガイダンスで議論する製品は、腫瘍抗原に対する特異的な反応性を引き起こす治療用がんワクチンであり、すでにかんであることを診断されている患者の治療に用いられる製品である。これらの製品は CBER が審査をすることになり、本文書では「がんワクチン」と定義することになっている。これらのがんワクチンは、抗原特異的な宿主免疫反応のインビボでの誘導や増幅を通じて治療効果を発揮するものである。本ガイドラインは、感染症を効能とする防御あるいは治療用のワクチン、非特異的な免疫賦活化作用の誘導や促進を目的とする製品、あるいはがんの罹患歴に拘わらず患者のがん発症を防御したり、その発症を抑制するための製品は含まれない。さらに本ガイダンスは腫瘍を直接のターゲットとして治療効果発揮するような T 細胞や NK 細胞を利用した適応免疫製剤についても対象外としている。適用免疫製剤とがんワクチンは異なる作用メカニズムで治療効果を発揮するものであり、本ガイドラインには適用免疫製剤は含めないことにしている。

本ガイダンスを含め FDA のガイダンス文書は、規制的な要件を示すものではない。むしろ、ガイダンスは各トピックスについて FDA の最新の考え方を示すものであり、特定の規制的要件や法的に要求事項を示すもので無く、FDA の推奨としてのみ参照されるべき (should) ものである。また、この”should” ということばは、なんらかの示唆や推奨を示すものであり、要求事項としては使われていない。

## II. 背景

多くのがんワクチンの作用メカニズムは抗原特異的な T 細胞応答を誘導するか、あるいは既に患者が持っている抗原特異的な T 細胞応答性、特に細胞障害性 T 細胞応答の増幅を介してその薬効を

発揮すると考えられている。がんワクチンは、抗原提示細胞 (APC) を介して免疫系より誘導されるがん特異抗原に対する免疫応答性を誘導するものである。これらの APC はヒト白血球抗原拘束性に T 細胞へ抗原決定基を提示し、提示を受けた T 細胞は同じ抗原決定基を発現している腫瘍細胞を攻撃することができるようになる。T 細胞は抗体産生能を持つ B 細胞応答を補助することもでき、B 細胞が産生した抗体により腫瘍細胞死を引き起こすことも可能である。抗原提示及びそのプロセッシング、リンパ球の活性化、腫瘍細胞死にいたるのは、生体内でかなりの時間を要する過程である。したがって、がんワクチンの開発には従来のバイオ医薬品開発やがん治療に用いられている細胞障害性の医薬品とは異なり、治験デザインでは新たな視点を提示すべきである。

FDA はがんワクチン製品の開発について議論するための数度の会議を開催してきた。例えば 2007 年 2 月 8-9 日に国立がん研究所と共催し、「治療用がんワクチンの開発と免疫療法の承認に向けて」についてのワークショップを開いた。これらの会議を通じて得られた関係者からの意見を踏まえたうえで、本ガイダンスは生物製剤としての製造販売承認を受けるためのサポートデータを得るために IND 申請に向けたものとしてのがんワクチンの臨床治験デザインに関する推奨事項をまとめたものである。

### III. 臨床試験デザインにあたっての考慮事項

新規がんワクチン製品の治験開発初期の治験では、最適投与量、投与スケジュール、生物学的及び臨床的効果、安全性プロファイルを決定することが目的となる。一方臨床開発後期では、対象とする患者集団での有効性と安全性を確認できる試験も実施することになる。後期治験で得られたデータが生物製剤としての承認申請をサポートすることになるであろう。

A. 治験の初期及び後期フェーズでの考慮事項  
初期及び後期での臨床治験で考慮すべき臨床上のポイントは次のような点である：

#### 1. 患者集団

##### a. 適用症の設定

がん化学療法剤の臨床開発の従来型モデルでは最初に進行性の転移がんや異なるがん種をもつ患者への適用し、最大耐性量 (MTD) と最適投与スケ

ジュールの設定と共に腫瘍の縮小(対象とする腫瘍の反応性)を通じての臨床効果も含めて評価される。従って、従来の細胞毒性のある化学療法剤を用いた治験での最大耐性量の評価と探索的な治療における最初の 8 週間で認められる腫瘍の縮小を通じた臨床効果は、短期間での観察で評価される。続いての実施される臨床開発では目的とする薬剤について、1 種類の転移性の一つのがん種を対象として、大規模かつランダム化された患者を対象としてコントロール群をおいた有効性と安全性の試験が実施される。いったん有効性と安全性が転移性がんでは示されたならば、同じ薬剤について病状が殆ど認められないか、(手術により)残存している病巣が無いとされる患者を対象として開発を進めることになる。

以上のような従来のがん治療製剤と異なり、がんワクチンの臨床開発では抗腫瘍免疫反応による活性や有効性を示すためには一般的に 2-3 ヶ月の時間を要する。

さらに、再発性、あるいは転移/再発がんの患者は、それ以前に複数の治療を受けている(細胞毒性がある治療、免疫抑制性のある化学療法や放射線治療)。これらの抗腫瘍治療は免疫システムに対して有害な作用を示す可能性があり、ひいては目的とするがんワクチンに対する反応性を抑制することになりかねない。逆に本ガイドラインで議論しているがんワクチンは、病状が殆ど認められないか(手術により)残存している病巣が無いとされる患者を対象とすることにより、がんワクチンによって誘導される免疫反応を検出できるだけの十分な期間の試験が可能である。しかし、有効性の実証には、疾患の再発に関するエビデンスについて継続的な検証が求められるであろう。がんワクチンはこのように臨床試験が長期にわたり、かつ再発性や転移性のがん患者へは適用しにくいという欠点を持つことから、臨床試験でより多くの患者と時間を要することになる。従って、がんワクチンの開発者は、がんワクチンの臨床試験において転移性がん患者と対象とするのと病状が認められないか(手術により)残存している病巣が無いとされる患者を対象とするのとの利点と不利な点があり、それを比較することが必要である。

##### b. 患者集団での腫瘍の不均一性

細胞傷害(毒性)性のある抗がん剤候補製品の開発では、通常進行度が異なるステージの患者を対象として、かつ様々な腫瘍タイプの患者集団を対

象としてフェーズ1の臨床治験が実施される。フェーズ1の臨床治験の主要な目的は最大耐用量(MTD)の決定と被検薬の安全性プロファイルを明らかにすることである。従ってフェーズ1の臨床治験では異なるがん種ごとに異なる臨床効果が得られる可能性があり、そのような差異については受け入れ可能とされる。被検薬の毒性が受容可能であることが示されれば、フェーズ2の臨床治験に移行することができる。

共通のがん抗原と持つ様々ながん種の患者集団を対象とした臨床開発初期の試験も受け入れ可能であるが、承認申請に向けた意味のある有効性のデータが得られない可能性もある。様々なタイプのがん種を持つ患者を登録することやがんワクチンの臨床開発初期にどのようなステージの患者を登録するかは非常に難しい課題である。がんにおける臨床ステージの違いやそれ以前にどのような治療を受けていたかの違いは、がんワクチンの応答性に大きく影響する。これは患者自身の原材料(自己樹状細胞、自己の腫瘍、腫瘍から抽出したmRNA)からがんワクチンを作製する場合に、患者の病歴や腫瘍のどの部位を用いるのかなどというように特に問題となり、それぞれ調製されたがんワクチンが異なる製品になってしまいかねない。その結果として、様々ながん種の患者集団を対象として実施された臨床試験の結果をどのように解釈するか必ずしも明確に示すことが出来ない場合も多く、臨床試験の目的が達成できないことになりかねない。がんワクチンの開発初期での患者集団の選択に関しては、様々な患者集団を対象とする場合に注意を払う必要がある。

### c. がんワクチンと目的抗原の試験の同時開発

提案されているがんワクチンの作用機序に特定の抗原や他の臨床的なターゲットが含まれているときには、各々の患者の腫瘍組織に目的とする抗原分子が発現しているかを解析するためのアッセイ法の開発や患者の応答性をモニタリングするための仕組みも必要であろう。これらのアッセイは医療機器・放射線保険センター(CDRH)による規制をうける。従ってがんワクチンの開発企業は、がんワクチンと共にがん組織の抗原発現のアッセイ系を同時に開発することを目指すべきであり、またがんワクチンの開発企業はCBERとCDRHに関連製品に関する面談を申し込むことを強く推奨される。議論は開発の初期から実施するべきであり、理想的には臨床試験実施申請(IND)や医療機器臨

床試験実施申請(IDE)の前に行うべきであり、製品の開発において治療薬と診断薬をペアで用いることにより安全性と有効性を示すデータが得られやすくなる。これは、アッセイを実施することにより治験に用いるがんワクチンの安全性と有効性の実証に必要となる場合には特に重要である(コンパニオン診断薬について参照3-5)。

### 2. 免疫応答性のモニタリング

がんワクチンの作用機構として提案されているのは、免疫応答を誘導ないしは増幅することにより抗腫瘍効果を発揮するとされている。我々は免疫反応性のモニタリングが主要な探索目標であり、臨床開発初期において特に重要であり、薬理学的効果や投与する抗原に対する免疫反応性を示すことがProof-of-concept 確立の重要な目的となる。この目的のために、免疫反応性のモニタリングは次のようなものが有用と考えられる。

- ・ 試験結果に影響を与えるような免疫応答性のばらつきを評価すること。既知抗原(keyhole limpet hemocyanin, 液性免疫としての破傷風抗原、細胞性免疫の応答性としての phytohemagglutinin)に対する応答性と患者集団の不均一性を評価するためのHLAタイピング、さらにどのようなHLAを介してがんワクチンが作用するか、あるいはHLA拘束性のがんワクチンの活性評価。
- ・ 臨床開発初期においては、投与量及び投与スケジュールの最適化、被検薬が目的とする免疫反応を誘導するかを決定すること、免疫寛容の評価、Proof-of-conceptの提起、更なる開発を継続し次の臨床試験デザインをするための判断基準を提示すること
- ・ 後期の臨床開発では、がんワクチンの反応性がどのようなものか、免疫反応性の程度、反応性を示す期間、さらに臨床的有効性のパラメーターとの相関性についてのデータを提供すること。

臨床的に効果のある抗腫瘍免疫応答には複数の要素からなる過程が含まれる；このためにモニタリングのための複数のアッセイで免疫応答を確認し、応答に介在する因子を測定する必要がある。抗腫瘍効果に最も重要で、かつ直接関連すると考えられる免疫応答を測定するためのアッセイ法を開発するべきである。もし可能であれば抗腫瘍作用に介在する想定される免疫応答モニタリングするための少なくとも2つの免疫学的アッセイを用いる

べきである。アッセイの標準化では、試験を実施する施設が異なっても免疫応答のバラツキをコントロールできるような特異的なパラメーターが含まれるようにする必要がある。アッセイ条件、感度と特異性のコントロール、インビトロでの増幅工程、陽性と陰性コントロールの設定、患者サンプルで得られた結果の陽性、陰性判定を行うためにカットオフ値の設定、テスト結果の計算に用いる統計分析手法などのアッセイパラメーターは、臨床試験を開始をする前に臨床試験プロトコルに明確に記載しておく必要がある。

特定の抗原が特定されていなかったり、目的抗原分子を特定するための適切な特異抗体などが利用できない場合には、がんワクチン投与により引き起こされる特異的な免疫応答を検出するためのアッセイ系の確立が課題となる。抗原特異的な免疫反応のモニタリングアッセイ法が確立されていない条件では、標準抗原に対する遅延型過敏症

(DTH) 反応によりインビトロ、インビボでの腫瘍細胞や腫瘍細胞分解物に対するT細胞応答か抗体産生応答などが利用できるかもしれない。宿主免疫応答の特異性を明らかにするために適切な標準抗原（例えば、インフルエンザ、カンジダ、破傷風毒素）をDTHのアッセイに含めるようにすべきである。標準抗原が利用できない場合には、T細胞や抗体の量や免疫細胞活性といった広く免疫反応の評価で用いられている指標を利用できないかをCBERと議論をすることができる。我々は開発企業に対してできる限り開発の初期からCBERとこれらの議論をすることを推奨している。

がん細胞上に発現している抗原の消失(血中からの消失)を評価するといった代替性の評価試験はがん免疫療法に対する免疫応答性のモニタリングや治療に対する抵抗性の機作を評価することに役立つ可能性がある。しかし、抗原の消失は必ずしも有効性の指標になるとは限らないために、生物製剤としての承認において有効性の主要評価データとすることはできない。

### 3. 有効性の指標としてのバイオマーカー

FDAはがんワクチンの有効性を外挿できるような、かつその作用メカニズムの科学的に理解するためのバイオマーカーの探索・開発を推奨している。しかし、有効性の代替となるバイオマーカーに開発についての言及はこのガイドラインのスコープを越えている。

### 4. 免疫反応を促進するために用いられるアジュバント

がんワクチンの製剤化では抗原への特異免疫反応を増幅させたり、惹起させるために抗原とアジュバントを抱合させることがある。がんワクチンとアジュバントのコンビネーションで臨床投与を行う前に、アジュバント単独での毒性や臨床試験に用いられるアジュバントとがんワクチンのコンビネーションでの毒性を適切に評価するために前臨床試験を実施しておく必要がある。

これらの前臨床試験のデザインは計画されている臨床試験のレジメンや投与法に沿ったものでなければならない。承認された生物製剤のアジュバントに求められる全般的な要求事項は、21 CFR 610.15に記載されている。これらの要求事項には、使用するアジュバントが目的とする製品の安全性や力価に望ましくない作用を持たないことを示す証拠を提出することが含まれる(21 CFR 610.15)。がんワクチン開発の初期ステージで添加するアジュバントの有用性を支持する情報を提出することが求められ、その情報には免疫反応を昂進したり抗原性を発揮を促進することの証拠やアジュバントの投与量を選択するために必要なデータが含まれなければならない。

(通常のアジュバントとは異なる)アジュバント以外の免疫賦活活性を持つ製品(例えばサイトカイン)ががんワクチンの抗原性を増強するために用いられるときには、臨床試験デザイン及びコントロール集団の選択についてはFDAと議論をすべきである。試験デザインで求められる要求事項は試験ごとに異なりケースバイケースの判断が求められる。

### 5. 複数の抗原ワクチン

宿主からの攻撃を逃れるためにがん細胞ががん特異抗原を隠すことが知られており、これを回避するためにがんワクチンの製剤化では、複数のがん特異抗原に対する特異的な免疫応答を誘導できるように複数のがん抗原カクテルを含む製品も開発されている。一般に、複数の抗原からなるがんワクチンの各々のコンポーネントは個別に有効性や安全性を評価する必要はないと考えられるが、それぞれケースバイケースで判断することになるであろう。

### 6. がんワクチン投与直後や短期間のうちに起るがんの進行や再発

腫瘍学の一般的常識では、承認されたがん治療臨床試験で一般的に患者の病状が進行した場合には治験の継続は許されない。しかしがんワクチンに対する免疫応答や免疫の亢進が被験者（患者）に起きるためにはある程度時間が必要なことから（すなわち腫瘍特異的な免疫応答）このような治験ではワクチンは遅延性の効果として発現するであろうと考えら得る。このような状況では、ワクチンが効果を発揮するまでには相当の時間を要するためにその前に臨床状態が進行してしまうことになりかねない。従って、被験者の無症候性である場合や生命を脅かすような病態（中枢神経系への転移や骨への転移による切迫性の骨折など）の進行がないのであればがんワクチンの継続を中止したり投与を中止したりする絶対的な理由とはならない。

このような状況に対応する一つのアプローチの仕方としては、治療中のがんワクチンの投与を継続するときに臨床上的症状の進行の程度やどの部位でがんが進行したかを明確にするような治験プロトコルを用いるという方法がありえる。がんワクチン開発者が病態の進行の兆候が見られたとしても治験を継続する例外事項プロトコルに提供するような臨床状態としては次のようなものがあげられる：

- ・ 治験の継続が他の治験プロトコルの適格性基準に適合していること。
- ・ 用量制限毒性 (DLT) が認められないことと全ての毒性所見がベースラインレベルであることに加え治験デザイン適格性基準に適合していること。
- ・ 治験の実施にともなう病状の悪化が認められないこと。
- ・ 目的とする効能に関して代替となる治療法がないこと。（骨肉腫患者の肺転移における切除術）
- ・ がんの進行により重篤な状態に陥ることを防ぐために緊急の治療が遅れが生じないこと。（CNSへの転移）
- ・ がんワクチンの効果が発揮されるまでに遅延が生じることの治験の開発初期における臨床での証拠。

被験者に提供するインフォームドコンセントの文書には十分に予測可能なリスクや負担 (21 CFR 50.25(a)(2)) (例えば病気の進行や再発の可能性) を明記するべきであり、また他の治療法の選択肢についても同様である。

## 7. がんワクチン治療に付随して実施されるがん治療

最新の免疫療法における進歩の一つとして腫瘍の効果的な破壊には複数の協調した免疫効果が作用していることが明らかになってきた。これらの機構には抗原提示細胞の増幅、エフェクターT細胞の活性化、抑制性T細胞の除去などが含まれているとされるが、但しこれらに限定されるわけではない。がんワクチンの目的とする治療効果は他の細胞傷害性の治療や免疫制御療法によりその効果が減弱されたり亢進したりするであろう。従って、他の療法による細胞傷害性や免疫制御効果については製品開発計画全体の中で考慮しておく必要があり、特に治験をデザインする際の重要な要素である。がんワクチンの治療に付随する治療法（化学療法、生物製剤の投与、放射線療法、レーザー療法など）についてその作用メカニズム、投与量、付随療法のスケジュール、ワクチンとの付随療法との促進効果や減弱効果などについてその妥当性を説明できなければならない。

標準治療が利用できるときには、がんワクチンの投与スケジュール、さらにはがんワクチンの安全性や想定される生物活性の評価などに関連してこれらの治療をどのタイミングで実施するのかそれぞれの治療をどの順序で実施するのかを考慮する必要がある。がんワクチンと標準療法のタイミングやどの順序で実施するのかについての選択肢については前臨床試験から外挿することができれば臨床開発をデザインにおいて有用と考えられる。適格性基準や治療の満足度を含め治験デザインの詳細はがんワクチンの生物学的効果を検出できるような試験とするために標準治療のインパクトを出来るだけ少なくするように注意深く設定する必要がある。

ある条件下では、他の治療法とがんワクチンとの併用はコンビネーション製品を構成することができるかもしれない (21 CFR 3.2(e))。コンビネーション製品としての開発が想定される場合がある場合には、特定の製品とコンビネーション製品を構成するよう際に必要な事項について推奨を受けるためにFDAと開発初期に議論をすべきである。

がんワクチンの有効な応答性が惹起できた場合には他の細胞傷害性、分子標的製のある他のがん治療の効果に影響を与える可能性がある。従って、引き続いて実施する他の療法の特性や期間を明確



にしておく必要がる。

## B. 初期臨床試験における考慮事項

がんワクチンの臨床開発初期での主要な目的は、製品の安全性を評価すること；製品の最適投与量及び投与スケジュールを決定すること；その後のがんワクチンとしての開発を示唆するための科学データを提供し、想定される生物活性が認められることを確認し試験することである。

### 1. 治験開始投与量と投与スケジュール

がんワクチンの臨床試験の開始に際して、投与開始量及び投与スケジュールに同様にその後の投与量の増量スキームの選択では、前臨床試験で得られたデータや他のヒトでの臨床経験に基づいていなければならない。

可能であれば、前臨床でのインビトロ及びインビボでの有効性を示す試験により臨床試験の実施の妥当性を示されることが望ましい。これらの試験は、がんワクチンの毒性を明確にするための適切にデザインされた前臨床試験と組み合わせることにより最初の臨床投与量のスケジュールを示唆するものであることが望ましい。前臨床試験の毒性評価試験に用いられた投与量は前臨床でのPOC試験でがんワクチンの生物学的効果を示すために用いられた投与量と同等である必要がある。これらの前臨床試験の目的は、適用可能であれば無毒性用量 (NOAEL) としての投与量のレベルを確認することであり、そのことによって関連する生物学的あるいは生理学的パラメーター（体重、抗原の発現、臨床病態、病理学など）を考慮して臨床試験での開始投与量を示すことが可能になる。

がんワクチンに関連すると想定される毒性は正常組織に発現している目的抗原存在やがんワクチンペプチドと類似のペプチド配列を持つ正常組織に関連する可能性があることから、ヒト正常組織に目的とする抗原が存在するかを解析する必要がある。ペプチドワクチンでは、ターゲット分子のペプチド配列のホモロジー検索ががんワクチンに関連する毒性の予測を助けることになる。

前臨床試験でがんワクチン製品の免疫応答の時間経過での変化を評価することは、がんワクチンの想定されるインビボでの活性や安全性プロファイルを洞察することにつながり、ヒトにおけるワクチン投与における投与量の選択や投与のタイミ

ングの選択の助けとなるであろう。

一般に、これらのがんワクチン製品で予測される作用機作と免疫応答の種特異性の差異から動物で得られた安全性投与量がヒトでの安全性のある投与開始量としてあらかじめ設定されたように変換係数のようなものは無い。開発者は、必要な科学的データと共に、提案している臨床開始投与量、投与量の増量法、投与スケジュールの決定に用いた法則の外挿性の妥当性を示す必要がある。

既にヒトへの投与が行われたことのあるがんワクチンの場合には、主要な安全性や活性データが得られているとする場合もある。そのような状況下では、既に得られている臨床試験データが利用できる場合には臨床開始投与量及び投与スケジュールを決定するための追加の前臨床試験が不要になることもありうる。開発者は治験計画申請書に目的とする臨床試験でのがんワクチンの安全性を示すために活性や安全性プロファイルに関する取得済の臨床データの全ての情報を提供する必要がある。

### 2. 追加免疫と免疫維持

がんワクチンの開発者は、長期に亘る免疫原性を維持し、また臨床効果をより明確に示すために追加免疫により免疫状態を維持するための投与方法を開発すること目指すとおもわれる。その様な治療法を評価するための前臨床試験の実施が推奨され、さらにその様な治療法の安全性及び効果を支持するための追加の臨床試験をデザインする必要がある。

### 3. 投与量の選択

従来のがん治療薬の開発における投与量の増量スケジュールは、治療選択肢のあまりない、かつ生命を脅かすような病態の患者のための外来治療として受け入れられている被検者の17%以上には治療制限用量 (TLT) を引き起こす第2相臨床試験の選択を避けるためにいわゆる3+3用量試験が用いられている。3+3用量試験では、3人の患者が同じ投与量のコホートに組み入れられる。これらの患者でいずれも用量制限毒性が認められなかった場合に次の高用量投与量のコホートへの登録が開始される。特定の投与量のコホートで用量制限毒性が一人の患者に認められた場合には同一の投与量のコホートにさらに3人の患者が登録されることになる。特定の投与量のコホートで6



人の患者の中の一人を超える患者で用量制限毒性が認められた場合にはその投与量は最大耐用毒性に到達したとされ、さらなる投与量の増量は許されないこととなる。

多くのがんワクチンも 3+3 用量試験が用いられているが、非常に僅かな例外と除いてがんワクチンで最大耐性毒性が同定されたことは無い。このような治験では、用量と毒性との相関カーブは非常にフラットなために投与可能な最大投与量は毒性というより製品の製造上の限界や物理的な観点(解剖学的な)からの制限を受けることになる。従ってがんワクチンの臨床開発初期における情報を得る手段として 3 + 3 用量試験が最も適しているというわけではなく、他の試験デザインを考慮すべきである。

ある種のがんワクチンの受容可能な安全性プロファイルを得るためには、用量をさらに上げた増量や継続的な再評価を行うなど、3 + 3 用量試験に代わる別の投与量の増量法を考慮すべきであろう。そのための試験デザインの設定では、プロトコルに増量の最終ポイント(データによって支持される)を決めるための受け入れ可能なパラメーターを記載しておく必要がある。どのような投与量の増量方法を採用するにしても、試験プロトコルには用量制限毒性を明確にしておく必要があり、治療停止基準や被験者の安全性を確保する観点から試験の中止のためのルールを決めておく必要がある。用量制限毒性が示されないと想定される場合や達成できなかった場合には、免疫応答性などの他の結果から投与量を最適化しておくことが続いている試験での投与量を決定するために有用である。

がんワクチンを他の治療薬や医療機器とあわせて試験する場合、あるいは侵襲的な手法で投与する場合、さらには特別な安全性上の懸念があるような手術部位からの投与を行う場合などでは、従来の投与量の増量アプローチはワクチンやワクチンと併用される薬剤や機器との安全性プロファイルを示すかもしれない。

#### 4. 開発初期における単群試験とランダム化第2相試験

FDA は治験申請を行う開発者に POC データを得るための、投与量や投与スケジュール、さらには最新の表示された効果を持つ治療薬と比較し、新

しい治療薬の生物活性を詳細に理解するための初期臨床試験を注意深くデザインするように推奨している。この臨床開発初期のデータは、有効性を確立し、安全性を確認するためにデザインされたそれ以降のランダム化された臨床試験へ移行していくために十分に評価されている必要がある。

治験第2相のデザインに当たっては、単群試験とランダム化された群間比較試験が想定されるが、それぞれの利点と短所を考慮しなければならない。単群試験の結果は様々な理由から治験薬の時間経過を追った治療効果を過大評価する可能性がある。さらに単群試験の時間経過を追った効果のエンドポイントでは、ヒストリカルなコントロール群と比較しなければならず、そのためにヒストリカルな患者集団の選定においてバイアスが生じる可能性がある。さらにはヒストリカルな比較対照が長年に亘ってその基準が変化していく可能性がある。

単群試験では細胞傷害性のある抗がん剤による腫瘍縮小との比較が行うことが可能で、かつよく行われる；しかし、がんワクチンが腫瘍縮小を期待できないような製品の場合に治療薬の効果の証拠として腫瘍縮小を比較することは困難となる。従ってがんワクチンの作用メカニズムから、用いる試験が免疫効果を表し、評価可能であったとしても、がんワクチンを単群試験として実施することは更なる臨床開発へとつなげていくための意味のある抗腫瘍効果を評価するためには適切ではない場合が多い。

患者集団サイズの制限があることから、ランダム化した群間比較第2相試験は、治療薬としての治療効果を十分に示すほどの統計的なパワーを持つことが難しく、患者集団全般に亘って十分な治療効果があるとするには患者での経験に限界があることとなる。しかしながら、その様なランダム化第2相試験は後期の有効性の確認の試験(たとえば適切な治験集団サイズの決定や治療効果の推定など)のための治験デザインを導くために有用なデータを提供することになり、さらに免疫寛容を含む想定されるネガティブな効果の生じる場合に説明を可能とする。

#### C. 後期臨床試験での考慮事項

初期臨床試験では、安全性、最適投与量と投与スケジュール、そして生物活性の証拠を提示することが目標とされる。後期臨床試験は、有効性と

安全性についての追加の情報を集めることを目的としている。FDA は、開発者に後期臨床試験では初期臨床試験の結果に基づいて生物学的に最も有効な投与量と投与スケジュールで試験を開始することを推奨している。次のセクションでは、がんワクチンの評価に当たっての臨床上のエンドポイントの選択について議論をする。開発者は後期臨床試験の治験デザインについて、臨床エンドポイントの選択を含めて FDA と面談することを推奨している。

### 1. 初期臨床試験の安全性プロファイル

後期臨床試験では初期臨床試験で得られた安全性データを考慮する必要がある。第3相臨床試験に移行していくまでに製品が十分な安全性プロファイルを持つことを確認することが重要である。開発者は、第2相試験終了後面談のように安全性の課題について CBER と議論することが推奨されている。初期臨床試験で安全性に関する課題が同定されている場合には、第3層臨床試験の中で、適切な患者のモニタリングの実施など、注意深く安全性の課題について評価することが求められる。例えば、がんワクチンにおいて自己免疫反応は患者の衰弱をもたらす可能性があり、治験進行中及び長期ホローアップとしてモニタリングを行う必要がある。ホローアップの期間は、病気の自然経過や製品特性など多くの要因が関係する。がんワクチンが遺伝子治療に該当する場合には、FDA ガイドライン”Guidance for Industry; Gene Therapy Clinical Trials - Observing Subjects for delayed Adverse Events” 2006年11月発出を参考にすること。

### 2. エンドポイントの設定

後期臨床試験のデザインで最も重要な点は、臨床的に意義のあるエンドポイントの選択である。どのような臨床上の有用性を示すかは、がん種や病態ごとにより変わる。医薬品の承認に必要とされる臨床上の有用性は重要な臨床上の結果（生存率の向上、病状の改善）を含むが、既に確立されている代替エンドポイントに対する効果が有用性の評価につながることもありえる。FDA のガイダンスである”Guidance for Industry: Clinical Trial Endpoints for the Approval of Cancer Drugs and Biologics,” (2007年5月発出)、“Guidance for Industry: Providing Clinical Evidence of Effectiveness for Human Drug and Biological Products,” (2008年5月発出)”

“Guidance for Industry: Patient-Reported Outcome Measures: Use in Medical Product Development to Support Labeling Claims” (2009年12月発出)は治験のデザインとエンドポイントの設定にあたって特に有用であると考えられる。2007年5月に発出したガイダンスのIII.B節で議論されている腫瘍評価に基づくエンドポイントは、がんワクチンの後期臨床試験においては適切なエンドポイントではないであろう。

### 3. 統計的課題

がんワクチンの全体の臨床効果については最新の利用可能な治療オプションとの比較した評価が必要である。FDA はがんワクチンの治療開発でのエンドポイントの選択では、がんワクチンが優れた臨床効果を持っていることを示すような治験デザインを設計することを推奨している。

特定のがん種を対象とした臨床試験では、有用性のある治療法の効果を示せる被験者サイズが十分に確立されている場合もある。このような状況下では、非劣性試験デザインとその解析を考慮しても良いであろう。しかし非劣性試験デザインは複雑であり、そのために開発者は早期に FDA と相談すべきである。また FDA ガイダンス案である”Guidance for Industry: Non-Inferiority Clinical Trials” (2010年5月発出)に記載されている推奨を注意深く参照することがのぞましい。

アダプティブ臨床デザインはケースバイケースで考慮されるであろう。開発者は FDA のガイダンス案である”Guidance for Industry: Adaptive Design Clinical Trials for Drugs and Biologics” (2010年2月発出)の推奨事項を考慮すべきである。

主要エンドポイントを全生存期間とするような場合、継続して実施される治療と不整合が臨床結果の解釈を困難にする。従って、試験では継続して実施される治療の性質や期間を明確にし、適切な感度を有する解析をあらかじめ決めておく必要がある。

### 4. コントロール群

臨床試験の実施中に生じるバイアスを避けるために、また治験結果の解析を困難にするようなバイアスを避けるためにも、がんワクチンの臨床試験では適切な対照群において、比較薬ないしはプ

ラセボと比較することが必要である。プラセボを含む試験は慎重に考慮し計画を立てなければならない。プラセボを用いた試験をデザインすることにより既に安全性及び有効性が実証された利用可能な治療を実施しないのは倫理的に許されない。

被験者、治験者、評価者の盲検化は試験結果にバイアスが生じる可能性を低減するために有用である。しかし、がんワクチンや同時に投与する免疫付活化剤は特有の反応を被験者に引き起こすためにワクチンが投与されたことが容易に認識されてしまうことがある。盲検がされた処置を維持するために、次のように試験では異なる術者による処置を行うなどしなければならない：治験薬の投与、投与後の被験者の処置、及びエンドポイントの評価などを考慮すべきである。

## 5. ワクチンの遅延性効果

がんワクチンの免疫効果の作用メカニズムから、がんワクチンによって免疫効果を発揮するまでに投与後、相当の時間を要すると想定される。従って、がんワクチンを投与された被験者の腫瘍が、投与に応答して進行を見せることがあると考えられる。このような現象の可能性は、後期の臨床試験デザインでも考慮しなければならない。特に非臨床試験や早期臨床試験で、その様な兆候が認められ、相当の時間経過を経て観察可能になるエンドポイントであることが示されている場合にはその点を十分配慮することが必要である。がんワクチンには遅延性の効果があることから、エンドポイントカーブが治験の初期には効果がないという結果になる可能性がある。もしがんワクチンに効果があるのであれば、効果の影響は治験のより後期に認められるようになるであろう。この効果の遅延性は期待されるよりもより小さな平均的な効果という結果を導く可能性があり、その結果、効果の遅延による有用性を示すための被験者集団サイズの増加と治験の達成に関する主要評価においてより注意深い解析が必要となる。

## 6. 自己由来ワクチン製品

被験者の主要組織から調製する自己ワクチン製品を用いた臨床デザインはユニークな治療であり、特別な考慮が必要となる。そのようながんワクチンの製造は数ヶ月を要することになると想定される。完璧な寛解や病態の安定が適格性基準である場合には、病気の再発は進行のために製造に要する時間の間に何人かの被験者は的確性基準を外れ

ることになるであろう。

さらに、自己ワクチン製品の製造は原材料のばらつきや製造過程のばらつきゆえに全ての被験者に適用できるわけではないであろう。このような要因を無視したとしても、がんワクチンをランダム化した被験者に投与することが出来ないことは臨床試験の統計的なパワーに望ましくない影響を与える。従って、後期臨床試験を開始する前にワクチン製造の最適化を考慮する必要があり、ワクチン投与を受けるランダム化された被験者集団を大きくすることが出来るようにしなければならない。

## 7. 迅速承認制度

21 CFR Part 314, Subpart H (化学薬品) and 21 CFR Part 601, Subpart E (バイオ医薬品)に書かれているFDAの迅速承認制度は化学合成医薬品やバイオ医薬品の新薬に適用され、(1) 重篤あるいは生命を脅かす疾患の治療において安全性や有効性を示すことができるか、(2) 従来の治療に比べて治療上の優越性が提供できる場合に適用される(治療法の無い患者の治療に用いられる可能性、従来の治療法以上に認容性があつたり、有用性があつたり、治療の改善が認められる場合)(21 CFR 314.500 and 601.40)。このような指定においては、FDAは十分なかつ適切にコントロールされ、臨床的な有用性を評価するために、疫学的、治療学、病態生理学的、あるいは他の証拠に基づいて十分に妥当性のある代替エンドポイントに対して化学薬品や生物薬品製剤が効果があることを確立した臨床試験のデータに基づいて承認を与えるであろう。

FDAは進行性の病態でかつ既存の治療法に抵抗性の腫瘍をもつがん患者集団を対象として適切な代替エンドポイントとして腫瘍の縮小を示すことは受け入れることが出来る。しかし既に本文書の中で議論したように、がんワクチンは腫瘍の縮小を誘導できない可能性がある。従って、腫瘍の反応性に基づいて迅速承認の適用はがんワクチンの承認パスウェイとしては実現性が低いと考えられる。

がんワクチンにおいて臨床的な有用性を示す代替エンドポイントの関係や目的とする臨床結果において臨床的な有用性が示されるかが未だ不確かであることから、迅速承認制度としての承認では、申請者は生物製剤としての更なる試験を実施し、

臨床的な有用性を明らかにし記載することが求められる。単一の後期臨床試験により中間的なエンドポイントのデータに基づいた迅速承認審査と同一の試験の中で生存率のさらなるホローアップの結果に基づく有効性の確認が支持される可能性もある。従って、迅速承認を受けた時点から有効性確認のための市販後試験が実施されることになるかもしれない。もし申請者が迅速承認審査を考慮するのであれば、申請者は承認後にホローアップで臨床的な有用性を確認するための計画を立案する必要がある。もし市販後試験で臨床的な有用性が示せなかったり、必要とされた市販後試験を誠実に実施できなかった場合には、FDAは21 CFR 601.43の規制に基づいて承認申請取り消しの手続きを行い、承認の取り消しを行うであろう。

#### C-4. 「がん治療用ペプチドワクチンガイダンス」 日本バイオセラピー学会

国内では、バイオバイオセラピー学会より2012年にペプチドがんワクチンに特化したガイドラインを発表されている。その特徴としては次のような点が挙げられる。

・FDAガイダンスのとの相違点

①FDAガイダンスにはない非臨床、品質部分を追加。

②FDAガイダンスの方では、アジュバントや複数抗原ペプチドワクチン、KLHなどの融合タンパク質、タンパク質抗原、あるいはその他のがんワクチンについての情報が含まれているが、本ガイドラインでは触れられていない。

③FDAとの差異や今後我が国で開発されてくるがんワクチンを考えると下記のような要素を考慮すると、ペプチドワクチンに特化するよりも、ペプチドやタンパク質、あるいはイディオタイプ抗体なども含む内容にすることが望ましいのではと考えられる。

- ペプチド8-9merでは抗原提示細胞（APC）が取り込みプロセッシングを経て抗原提示されることは免疫学の従来の認識とは反するとされており、下記のように、8-9merペプチドで腫瘍免疫の誘導ではなく増幅と考える方が妥当性ではないかと考えられる。
- ペプチドに応答する内在性のCTLが増幅して行くことはあり得る。FDAのGLでは増幅と誘導を区別して使用している
- KLHなどとの融合タンパク質や融合ペプチドについて記載をどのようにするかの記事をどのようにすべきかが課題。

- がん抗原タンパク質そのものを用いて免疫誘導を行う場合の記事
- 抗体を利用（併用）したがんワクチンの評価はどのように扱うか（Ipilimumab、抗PD-1抗体、抗CCR4抗体）
- 抗腫瘍抗体に対するイディオ抗体を用いた腫瘍免疫誘導
- ペプチド／タンパク質以外にも多様ながんワクチンの開発がされている（樹状細胞やがん抗原提示細胞、ウイルスベクター、DNAプラスミド、糖脂質抗原）が、これらのがんワクチンについてどの程度言及するか。

#### D. 考察

本年度は、NIH Clinical Trial プロトコールや公表文献、MIATA プロジェクトガイドライン、FDAガイドライン、バイオセラピー学会ガイドライン等について調査してきた。これらの成果に基づいて、がんワクチンガイドラインに盛り込むべき内容として次のような要素が考えられる。

##### 1. ガイドライン作成に当たっての方向性

FDAのがんワクチンの臨床評価ガイドラインや日本バイオセラピー学会のガイダンスとも可能な範囲で整合を図りつつ、ペプチド／タンパク質ワクチンの開発に際しての留意事項等を中心にとりまとめを目指す必要がある。また、他のがんワクチンについても詳細な記載までは行わないものの、がんワクチン開発において有用と思われる情報を記載する方向でまとめるべきと考えられる。さらに、開発が進められている腫瘍による免疫抑制状態からの解除を目的とした薬剤との併用療法や、細胞治療、遺伝子治療等についても、その時点での科学的知見について触れる。

##### 2. ガイダンス案作成のポイント

（非臨床）

- 評価対象が合成ペプチドである場合には、各種非臨床試験の要否・内容等について検討が必要。
- 評価対象がタンパク質や融合ペプチドの場合には、ICH S6Rガイドラインを参考にすべきと考えられる。ICH S6Rの引用と特に注意すべき点の記載。
- インビトロで抗原提示細胞の処理を行う場合には、直接投与と異なる安全性評価が重要となる。また投与方法に基づく安全性評価。
- その中で、薬理試験については、HLAの構造は動物種差が大きく、薬理的活性発現メカニズム