

Table 4 Clinical trials with peptide-based vaccine in renal cell carcinoma

Investigator	Year	No. patients	Phase	Stage	Vaccine	Adjuvant	Clinical outcomes
<i>Metastatic setting</i>							
Uemura <i>et al.</i> ⁶⁰	2006	23	1	mRCC	CA9 derived peptide	Freund's adjuvant	3 PR, 6 SD, Clinical response rate 39%, at least 12 vaccination required to elicit CTL
Bleumer <i>et al.</i> ⁵¹	2007	8	1	mRCC	CA9 derived peptide	KHL	5 injections did not elicit CTL
Iiyama <i>et al.</i> ⁶¹	2007	3	1/2	mRCC	HLA-A2402 restricted 9-mer WT1 peptide	Montanide ISA51	2 SD, 12 weekly vaccination elicited CTL
Suekane <i>et al.</i> ⁶²	2007	10	1	mRCC	4 peptides	None, IL-2 or IFN	6 SD, Induction of humoral immunity
Patel <i>et al.</i> ⁶³	2008	60	2	mRCC	Heat shock Mycobacterium vaccae (SRL 172)	None	1 PR, 7 SD
		36	2	mRCC	Heat shock Mycobacterium vaccae (SRL 172)	With/without IL-2	No survival advantage, fewer AEs
Jonasch <i>et al.</i> ⁶⁴	2008	60	2	mRCC	Autologous HSPCC96 (vitespen)	None	2 CR, 2 PR, 7 SD
Amato <i>et al.</i> ⁶⁵	2010	733	3	mRCC	TroVax	IFN- α , IL-2 or sunitinib	Immune response in 60%, no significant improved survival in whole group, significant survival advantage in good-prognosis patients
Rahma <i>et al.</i> ⁶⁶	2010	6	1/2	mRCC	Mutant VHL peptide	Montanide	Median OS and PFS: 30.5 and 6.5 months
Walter <i>et al.</i> ⁶⁷	2012	96	1/2	mRCC	IMA901 (10 TUMAP)	CPA	Improved OS, immune responses to TUMAPs were associated with longer OS
<i>Adjuvant setting</i>							
Wood <i>et al.</i> ⁶⁸	2008	728	3	cT1b-T4N0M0 or cTanyN1-2M0	Autologous HSPCC96 (vitespen)	None	In patients with stage I/II, recurrence rare 15.2% (control 27%, $P = 0.056$), post-hoc analysis: significant risk reduction in intermediate risk group ($P = 0.004$)

for active specific immunotherapy. Furthermore, new TAA and tumor-derived HLA class I ligands have been identified.⁷⁴

In 2006, Uemura *et al.* reported the results of a phase I trial using CA9 vaccine.⁶⁰ In that trial, they showed that vaccination with three CA9 peptides is well tolerated and feasible in 23 HLA-A24+ patients with progressive cytokine-refractory RCC. Approximately 70% of evaluable patients showed CA9-specific CTL, as well as immunoglobulin G responses, and the clinical response rate was 39%. At least 12 vaccinations were required to elicit specific CTL, which possibly suggests the low immunogenicity of these peptides. In 2007, Bleumer *et al.* reported the results of a similar trial using a HLA-A0201-restricted 9-mer peptide, CA 9p254, and a HLA-DR-restricted 20-mer peptide, CA 9p249-loaded DC vaccine.⁵¹ Five intradermal vaccine injections did not induce peptide-specific CTL and immunoglobulin G. Although it is difficult to compare these two different vaccine trials, it is suggested that induction of immune response might be associated with the number of vaccinations.

Iiyama *et al.* presented the results of a phase I/II study of peptide vaccine therapy for various malignancies in 2007. In this trial, of the three patients with progressive mRCC, two cases showed long SD and peptide-specific CTL immune response after vaccination of an HLA-A2402-restricted 9-mer genetically modified WT1 peptide.⁶¹ WT1 peptide

vaccine induced grade 3–4 leukocytopenia in two patients with myelodysplastic syndrome, which might indicate a sufficient induction of specific CTL to eradicate target cells in bone marrow. Suekane *et al.* showed that personalized peptide vaccines with four different peptides administered every second week were well tolerated and induced peptide-specific humoral immune response in a small phase I study. Six out of 10 patients with cytokine-refractory mRCC showed SD after vaccination.⁶² Recently, Patel *et al.* reported the results of two completed phase II trials that evaluated heat-killed Mycobacterium vaccae SRL172 for mRCC patients. In the first non-randomized trial, SRL172 was feasible, as well as IL-2 or IFN- α , and more effective than chemotherapy in mRCC patients. The second randomized trial showed that SRL172 in combination with IL-2 had no clinical advantage with regard to efficacy over IL-2 alone.⁶³

In 2010, Rahma *et al.* reported the results of a phase I/II trial with six mRCC patients receiving mutant VHL peptide mixed with the immune-stimulating adjuvant montanide subcutaneously every 4 weeks until disease progression or utilization of all available peptide stock. Four patients showed specific immune responses against the corresponding mutant VHL peptides. Median OS and PFS rates were 30.5 and 6.5 months, respectively. Three of the six treated patients were still alive 57, 87 and 88 months after starting treatment without further conventional treatment. The

vaccine was well tolerated without any grade 3 or 4 adverse events.⁶⁶

TroVax (Oxford BioMedica, Oxford, UK) is a novel vaccine based on a MVA vector engineered to express 5T4 TAA, found in more than 95% of clear cell and papillary RCC tumors. 5T4 antigen is a transmembrane glycoprotein overexpressed in a variety of malignant tumor cells, but with a limited expression in normal tissues. The safety and efficacy of TroVax have been evaluated in several phase I/II clinical trials.^{75–80} Results from nine completed phase I and II trials in colorectal, renal and prostate cancer in approximately 190 patients showed that TroVax is safe and well tolerated. A cross-trial analysis of all evaluable patients showed a statistically significant association between immune responses to 5T4 and OS.⁸⁰ TRIST study (a randomized, double-blind, placebo-controlled Phase III trial in patients with advanced or mRCC) was completed in 2009. The primary endpoint was OS. TroVax was well tolerated when administered with IL-2, IFN- α or sunitinib. Although significant survival advantage was seen in good-prognosis patients treated with IL-2 plus TroVax compared with patients treated with IL-2 alone, there was no statistical difference in OS between the two groups (median 20.1 months MVA-5T4 vs 19.2 months placebo; $P = 0.55$).⁶⁵

IMA901 (Immatics Biotechnologies GmbH, Tübingen, Germany) is the first therapeutic vaccine for RCC consisting of multiple TUMAP confirmed to be naturally presented in human cancer tissue. Results from a completed phase II trial of IMA901 combined with standard care showed significantly enhanced survival rates and time to progression in patients treated with IMA901 vaccine therapy. Furthermore, enhanced survival was seen in patients additionally treated with one application of cyclophosphamide before commencing vaccination. Recently, Walter *et al.* reported the outcomes of phase I/II clinical trials using IMA901.⁶⁷ They treated a total of 96 HLA-A02 positive patients with mRCC with IMA901 in two consecutive studies. In the phase I study, they showed that the T cell responses of the patients to multiple TUMAP were associated with better disease control. The randomized phase II trial showed that a single dose of cyclophosphamide administration before IMA901 immunotherapy reduced the number of regulatory T cells, and confirmed that immune responses to multiple TUMAP were associated with longer OS. A randomized phase III study to determine the clinical benefit of treatment with IMA901 is now ongoing (NCT 01265901). IMA901 multi-peptide vaccine, such as sipuleucel-T, is one of the most available peptide vaccines in clinical practice in the near future.

Studies in the adjuvant setting

In 2008, Wood *et al.* published the clinical outcomes of adjuvant vaccine therapy with autologous tumor-derived heat-shock protein (glycoprotein-96) peptide complex

(HSPCC-96; vitespen; Oncophage) in 361 patients compared with observation alone in 367 patients at high risk for recurrence after nephrectomy in a multicenter, open-label, randomized phase III trial.⁶⁸ PFS was not significantly improved after vaccine therapy with recurrence reported in 37.7% in the vaccine group and 39.8% in the observation group ($P = 0.506$; HR 0.923; 95% CI 0.73–1.17). This investigation represents the largest study completed to date regarding vaccination strategies in RCC. However, OS data were not enough to be favorably evaluated. An insignificant trend towards a better PFS was only noted for the less advanced RCC patients. Another trial has been commenced to follow the remaining 500 patients to obtain mature data on OS. Furthermore, among 33 PD patients on vitespen alone, two patients showed SD after the addition of IL-2.⁶⁸ This peptide vaccine has also been applied to those with mRCC.⁶⁴

Although DC-based vaccine has been the major stream in the vaccine therapy, peptide-based vaccination still remains as an attractive method because of its technically easy approach. At present, the most promising approach in vaccine therapy in patients with RCC seems to be peptide-based vaccination with CA9, MVA-5T4 or IMA901.

Present limitations of vaccine therapy

One of the greatest obstacles for the development of vaccine therapy, especially in RCC patients, is the lack of specific TAA. The concept of immunotherapy is theoretically simple; however, it has been shown that the immune system is very complex from the practical experiences. Tumor surveillance derives from over 1000 tumor antigens that could enhance the adaptive immune response.^{81,82} As there are still few TAA identified from RCC, many investigators have chosen to use DC-based or autologous tumor cell lysate vaccines to overcome this problem. It has also been proposed that because of the complicated nature of cancer cells and their genetic instability, expression of molecules targeted by effector T cells, such as TAA, MHC molecules and molecules associated with antigen processing and presentation, might be reduced or lost.^{83,84}

Conclusion

Clinical investigations of vaccine therapy in RCC patients have shown that this treatment modality is safe and less toxic than other currently available molecular targeted therapies. Adverse events are less frequent and they are mostly grade 1 or 2. However, although immune and clinical responses have been noted in phase I/II trials among smaller patient cohorts, clinical benefits have not yet been fully proven in randomized phase III trials.

Despite small confirmative evidence-based data supporting vaccine therapy for RCC patients in clinical practice,

vaccine therapy might have an important role of treatment for those with RCC in the future, even in the era of targeted therapy. Further well-designed clinical trials including optimally selected patients (nephrectomized, with non-massive metastases and good performance status) should be required to warrant vaccine therapy for RCC.

Conflict of interest

None declared.

References

- Coley WB. The treatment of malignant tumors by repeated inoculations of erysipelas: with a report of ten original cases. *Am. J. Med. Sci.* 1893; **5**: 487–511.
- Neidhart JA, Murphy SG, Hennick LA, Wise HA. Active specific immunotherapy of stage IV renal carcinoma with aggregated tumor antigen adjuvant. *Cancer* 1980; **46**: 1128–34.
- McCune CS, O'Donnell RW, Marquis DM, Sahasrabudhe DM. Renal cell carcinoma treated by vaccines for active specific immunotherapy: correlation of survival with skin testing by autologous tumor cells. *Cancer Immunol. Immunother.* 1990; **32**: 62–6.
- Sahasrabudhe DM, deKernion JB, Pontes JE *et al.* Specific immunotherapy with suppressor function inhibition for metastatic renal cell carcinoma. *J. Biol. Response Mod.* 1986; **5**: 581–94.
- Finn OJ. Cancer immunology. *N. Engl. J. Med.* 2008; **358**: 2704–15.
- Steinman RM, Banchereau J. Taking dendritic cells into medicine. *Nature* 2007; **449**: 419–26.
- Frey AB, Monu N. Signaling defects in anti-tumor T cells. *Immunol. Rev.* 2008; **222**: 192–205.
- Kennedy R, Celis E. Multiple roles for CD4+ T cells in anti-tumor immune responses. *Immunol. Rev.* 2008; **222**: 129–44.
- Elkord E, Alcantar-Orozco EM, Dovedi SJ, Tran DQ, Hawkins RE, Gilham DE. T regulatory cells in cancer: recent advances and therapeutic potential. *Expert Opin. Biol. Ther.* 2010; **10**: 1573–86.
- Wysocki PJ, Kazmierczak U, Suchorska W, Koltarski M, Malicki JM, Mackiewicz A. Gene-modified tumor vaccine secreting a designer cytokine Hyper-Interleukin-6 is an effective therapy in mice bearing orthotopic renal cell cancer. *Cancer Gene Ther.* 2010; **17**: 465–75.
- Berntsen A, Geertsen PF, Svane IM. Therapeutic dendritic cell vaccination of patients with renal cell carcinoma. *Eur. Urol.* 2006; **50**: 34–43.
- Gouttefangeas C, Stenzl A, Stevanovic S, Rammensee HG. Immunotherapy of renal cell carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2007; **56**: 117–28.
- Frankenberger B, Regn S, Geiger C *et al.* Cell-based vaccines for renal cell carcinoma: genetically-engineered tumor cells and monocyte-derived dendritic cells. *World J. Urol.* 2005; **23**: 166–74.
- Oki Y, Younes A. Heat shock protein-based cancer vaccines. *Expert Rev. Vaccines* 2004; **3**: 403–11.
- Guida M, Colluci G. Immunotherapy for metastatic renal cell carcinoma: is it a therapeutic option yet? *Ann. Oncol.* 2007; **18**: 149–52.
- Kurth KH, Marquet R, Zwartendijk J, Warnaar SO. Autologous anticancer antigen preparation for specific immunotherapy in advanced renal cell carcinoma. *Eur. Urol.* 1987; **13**: 103–9.
- McCune CS, Schapira DV, Henshaw EC. Specific immunotherapy of advanced renal carcinoma: evidence for the polyclonality of metastases. *Cancer* 1981; **47**: 1984–7.
- Schärfe T, Müller S, Riedmiller H *et al.* Immunotherapy of metastasizing renal cell carcinoma. Results of a multicentered trial. *Urol. Int.* 1989; **44**: 1–4.
- Galligioni E, Quaia M, Merlo A *et al.* Adjuvant immunotherapy treatment of renal carcinoma patients with autologous tumor cells and bacillus Calmette-Guérin: five-year results of a prospective randomized study. *Cancer* 1996; **77**: 2560–6.
- Schwaab T, Heaney JA, Schned AR *et al.* A randomized Phase II trial comparing two different sequence combinations of autologous vaccine and human recombinant interferon gamma and human recombinant interferon alpha2B therapy in patients with metastatic renal cell carcinoma: clinical outcome and analysis of immunological parameters. *J. Urol.* 2000; **163**: 1322–7.
- Jocham D, Richter A, Hoffmann L *et al.* Adjuvant autologous renal tumour cell vaccine and risk of tumour progression in patients with renal-cell carcinoma after radical nephrectomy: phase III, randomized controlled trial. *Lancet* 2004; **363**: 594–9.
- Repmann R, Wagner S, Richter A. Adjuvant therapy of renal cell carcinoma with active-specific-immunotherapy (ASI) using autologous tumor cell lysate vaccine. *Anticancer Res.* 1997; **17**: 2879–82.
- May M, Brookman-May S, Hoschke B *et al.* Ten-year survival analysis for renal carcinoma patients treated with an autologous tumour lysate vaccine in an adjuvant setting. *Cancer Immunol. Immunother.* 2010; **59**: 687–95.
- Dillman R, Barth N, Vandermolen L *et al.* Autologous tumor cell line-derived vaccine for patient-specific treatment of advanced renal cell carcinoma. *Cancer Biother. Radiopharm.* 2004; **19**: 570–80.
- Dudek AZ, Mescher MF, Okazaki I *et al.* Autologous large multivalent immunogen vaccine in patients with metastatic melanoma and renal cell carcinoma. *Am. J. Clin. Oncol.* 2008; **31**: 173–81.
- Doehn C, Richter A, Theodor RA *et al.* An adjuvant vaccination with Reniale prolongs survival in patients with RCC following radical nephrectomy: secondary analysis of a multicenter Phase-III trial. *J. Urol.* 2007; **177** (Suppl): 167 (Abstract 500).
- Simons JW, Jaffee EM, Weber CE *et al.* Bioactivity of autologous irradiated renal cell carcinoma vaccines generated by *ex vivo* granulocyte-macrophage colonystimulating factor gene transfer. *Cancer Res.* 1997; **57**: 1537–46.
- Antonia SJ, Seigne J, Diaz J *et al.* Phase I trial of a B7-1 (CD80) gene modified autologous tumor cell vaccine in combination with systemic interleukin-2 in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J. Urol.* 2002; **167**: 1995–2000.
- Pizza G, De Vinci C, Lo Conte G *et al.* Allogeneic gene-modified tumor cells in metastatic kidney cancer. Report II. *Folia Biol. (Praha)* 2004; **50**: 175–83.
- Kübler H, Vieweg J. Vaccines in renal cell carcinoma. *Semin. Oncol.* 2006; **33**: 614–24.
- Wittig B, Marten A, Dorbic T *et al.* Therapeutic vaccination against metastatic carcinoma by expression-modulated and immunomodified autologous tumor cells: a first clinical Phase I/II trial. *Hum. Gene Ther.* 2001; **12**: 267–78.
- Tani K, Azuma M, Nakazaki Y *et al.* Phase I study of autologous tumor vaccines transduced with the GM-CSF gene in four patients with stage IV renal cell cancer in Japan: clinical and immunological findings. *Mol. Ther.* 2004; **10**: 799–816.
- Fishman M, Hunter TB, Soliman H *et al.* Phase II trial of B7-1 (CD-86) transduced, cultured autologous tumor cell vaccine plus subcutaneous interleukin-2 for treatment of stage IV renal cell carcinoma. *J. Immunother.* 2008; **31**: 72–80.
- Amato RJ. Vaccine therapy for renal cell carcinoma. *Rev. Urol.* 2003; **5**: 65–71.
- Avigan D. Dendritic cell/tumour fusions vaccine. *Dev. Biol. (Basel)* 2004; **116**: 161–8.
- Berntsen A, Geertsen PF, Svane IM *et al.* Therapeutic dendritic cell vaccination of patients with renal cell carcinoma. *Eur. Urol.* 2006; **50**: 34–43.
- Höfl L, Rieser C, Papeš C *et al.* Cellular and humoral immune responses in patients with metastatic renal cell carcinoma after vaccination with antigen pulsed dendritic cells. *J. Urol.* 1999; **161**: 777–82.
- Märten A, Flieger D, Renoth S *et al.* Therapeutic vaccination against metastatic renal cell carcinoma by autologous dendritic cells: preclinical results and outcome of a first clinical Phase I/II trial. *Cancer Immunol. Immunother.* 2002; **51**: 637–44.
- Höfl L, Zelle-Rieser C, Gander H *et al.* Immunotherapy of metastatic renal cell carcinoma with tumor lysate-pulsed autologous dendritic cells. *Clin. Cancer Res.* 2002; **8**: 3369–76.
- Märten A, Renoth S, Heinicke T *et al.* Allogeneic dendritic cells fused with tumor cells: preclinical results and outcome of a clinical Phase I/II trial in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Hum. Gene Ther.* 2003; **14**: 483–94.
- Oosterwijk E, Divgi CR, Brouwers A *et al.* Monoclonal antibody-based therapy for renal cell carcinoma. *Urol. Clin. North Am.* 2003; **30**: 623–31.

- 42 Gitlitz BJ, Beldegrun AS, Zisman A *et al.* A pilot trial of tumor lysate-loaded dendritic cells for the treatment of metastatic renal cell carcinoma. *J. Immunother.* 2003; **26**: 412–19.
- 43 Su Z, Dannull J, Heiser A *et al.* Immunological and clinical responses in metastatic renal cancer patients vaccinated with tumor RNA-transfected dendritic cells. *Cancer Res.* 2003; **63**: 2127–33.
- 44 Arroyo JC, Gabilondo F, Llorente L *et al.* Immune response induced *in vitro* by CD16- and CD16+ monocyte-derived dendritic cells in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with dendritic cell vaccines. *J. Clin. Immunol.* 2004; **24**: 86–96.
- 45 Pandha HS, John RJ, Hutchinson J *et al.* Dendritic cell immunotherapy for urological cancers using cryopreserved allogeneic tumour lysate-pulsed cells: a Phase I/II study. *BJU Int.* 2004; **94**: 412–18.
- 46 Dannull J, Su Z, Rizzieri D *et al.* Enhancement of vaccine-mediated antitumor immunity in cancer patients after depletion of regulatory T cells. *J. Clin. Invest.* 2005; **115**: 3623–33.
- 47 Barbuto JA, Ensina LF, Neves AR *et al.* Dendritic cell-tumor cell hybrid vaccination for metastatic cancer. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005; **54**: 663–70.
- 48 Höftl L, Ramoner R, Zelle-Ricsner C *et al.* Allogeneic dendritic cell vaccination against metastatic renal cell carcinoma with or without cyclophosphamide. *Cancer Immunol. Immunother.* 2005; **54**: 663–70.
- 49 Wierceky J, Muller MR, Wirths S *et al.* Immunologic and clinical responses after vaccinations with peptide-pulsed dendritic cells in metastatic renal cancer patients. *Cancer Res.* 2006; **66**: 5910–18.
- 50 Matsumoto A, Haraguchi K, Takahashi T *et al.* Immunotherapy against metastatic renal cell carcinoma with mature dendritic cells. *Int. J. Urol.* 2007; **14**: 277–83.
- 51 Bleumer I, Tiemessen DM, Oosterwijk-Wakka JC *et al.* Preliminary analysis of patients with progressive renal cell carcinoma vaccinated with CA9-peptide-pulsed mature dendritic cells. *J. Immunother.* 2007; **30**: 116–22.
- 52 Kim JH, Lee Y, Bae YS *et al.* Phase I/II study of immunotherapy using autologous tumor lysate-pulsed dendritic cells in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Clin. Immunol.* 2007; **125**: 257–67.
- 53 Wei YC, Sticca RP, Li J *et al.* Combined treatment of dendritoma vaccine and low-dose interleukin-2 in stage IV renal cell carcinoma patients induced clinical response: a pilot study. *Oncol. Rep.* 2007; **18**: 665–71.
- 54 Avigan DE, Vasir B, George DJ *et al.* Phase I/II study of vaccination with electrofused dendritic cells/autologous tumor-derived cells in patients with stage IV renal cell carcinoma. *J. Immunother.* 2007; **30**: 749–61.
- 55 Schwaab T, Schwarzer A, Wolf B *et al.* Clinical and immunologic effects of intranodal autologous tumor lysate-dendritic cell vaccine with adjuvant (interleukin 2) and IFN- α 2a therapy in metastatic renal cell carcinoma patients. *Clin. Cancer Res.* 2009; **15**: 4986–92.
- 56 Soleimani A, Bernsten A, Svanet IM, Pederson AE. Immune responses in patients with metastatic renal cell carcinoma treated with dendritic cells pulsed with tumor lysate. *Scand. J. Immunol.* 2009; **70**: 481–9.
- 57 Van Poppel H, Joniau S, Van Gool S. Vaccine therapy in patients with renal cell carcinoma. *Eur. Urol.* 2009; **55**: 1333–44.
- 58 Oosterwijk-Wakka JC, Tiemessen DM, Bleumer I *et al.* Vaccination of patients with metastatic renal cell carcinoma with autologous dendritic cells pulsed with autologous tumor antigens in combination with interleukin-2: a Phase I study. *J. Immunother.* 2002; **25**: 500–8.
- 59 Frankenberger B, Regn S, Geiger C *et al.* Cell-based vaccines for renal cell carcinoma: genetically-engineered tumor cells and monocyte-derived dendritic cells. *World J. Urol.* 2005; **23**: 166–74.
- 60 Uemura H, Fujimoto K, Tanaka M *et al.* A Phase I trial of vaccination of CA9-derived peptides for HLA-A24-positive patients with cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma. *Clin. Cancer Res.* 2006; **12**: 1768–75.
- 61 Iiyama T, Udaka K, Takeda S *et al.* WT1 (Wilms' tumor 1) peptide immunotherapy for renal cell carcinoma. *Microbiol. Immunol.* 2007; **51**: 519–30.
- 62 Suckane S, Nishitani M, Noguchi M *et al.* Phase I trial of personalized peptide vaccination for cytokine-refractory metastatic renal cell carcinoma patients. *Cancer Sci.* 2007; **98**: 1965–8.
- 63 Patel PM, Sim S, O'Donnell DO *et al.* An evaluation of a preparation of *Mycobacterium vaccae* (SRL172) as an immunotherapeutic agent in renal cancer. *Eur. J. Cancer* 2008; **44**: 216–23.
- 64 Jonasch E, Wood C, Tamboli P *et al.* Vaccination of metastatic renal cell carcinoma patients with autologous tumour-derived vitespen vaccine: clinical findings. *Br. J. Cancer* 2008; **98**: 1336–41.
- 65 Amato RJ, Hawkins RE, Kaufman HL *et al.* Vaccination of metastatic renal cancer patients with MVA-5T4: a randomized, double-blind, placebo-controlled Phase III study. *Clin. Cancer Res.* 2010; **22**: 5539–47.
- 66 Rahma OE, Ashtar E, Ibrahim R *et al.* A pilot clinical trial testing mutant von Hippel-Lindau peptide as a novel immune therapy in metastatic renal cell carcinoma. *J. Transl. Med.* 2010; **8**: 8–16.
- 67 Walter S, Weinschenk T, Stenzl A *et al.* Multipptide immune response to cancer vaccine IMA901 after single-dose cyclophosphamide associates with longer patient survival. *Nat. Med.* 2012; **18**: 1254–61.
- 68 Wood C, Srivastava P, Bukowski R *et al.* An adjuvant autologous therapeutic vaccine (HSPCC-96; vitespen) versus observation alone for patients at high-risk of recurrence after nephrectomy for renal cell carcinoma: a multicentre, open-label, randomized Phase III trial. *Lancet* 2008; **372**: 145–54.
- 69 Liao SY, Brewer C, Zavada J *et al.* Identification of the MN antigen as a diagnostic biomarker of cervical intraepithelial squamous and glandular neoplasia and cervical carcinomas. *Am. J. Pathol.* 1994; **145**: 598–609.
- 70 Turner JR, Odze RD, Crum CP *et al.* MN antigen expression in normal, preneoplastic, and neoplastic esophagus: a clinicopathological study of a new cancer-associated biomarker. *Hum. Pathol.* 1997; **28**: 740–4.
- 71 Saarnio J, Parkkila S, Parkkila AK *et al.* Immunohistochemical study of colorectal tumors for expression of a novel transmembrane carbonic anhydrase, MN/CA IX, with potential value as a marker of cell proliferation. *Am. J. Pathol.* 1998; **153**: 279–85.
- 72 Saarnio J, Parkkila S, Parkkila AK *et al.* Immunohistochemistry of carbonic anhydrase isozyme IX (MN/CA IX) in human gut reveals polarized expression in the epithelial cells with the highest proliferative capacity. *J. Histochem. Cytochem.* 1998; **46**: 497–504.
- 73 Swinson DE, Jones JL, Richardson D *et al.* Carbonic anhydrase IX expression, a novel surrogate marker of tumor hypoxia, is associated with a poor prognosis in non-small-cell lung cancer. *J. Clin. Oncol.* 2003; **21**: 473–82.
- 74 Gouttefangeas C, Stenzl A, Stevanović S, Rammensee HG. Immunotherapy of renal cell carcinoma. *Cancer Immunol. Immunother.* 2007; **56**: 117–28.
- 75 Elkord E, Shablak A, Stern PL, Hawkins RE. 5T4 as a target for immunotherapy in renal cell carcinoma. *Expert Rev. Anticancer Ther.* 2009; **9**: 1705–9.
- 76 Amato RJ, Shingler W, Naylor S *et al.* Vaccination of renal cell cancer patients with modified vaccinia Ankara delivering tumor antigen 5T4 (TroVax) administered with interleukin 2: a Phase II trial. *Clin. Cancer Res.* 2008; **14**: 7504–10.
- 77 Kaufmann HL, Taback B, Sherman W *et al.* Phase II trial of Modified Vaccinia Ankara (MVA) virus expressing 5T4 and high dose Interleukin-2 (IL-2) in patients with metastatic renal cell carcinoma. *J. Transl. Med.* 2009; **7**: 2–12.
- 78 Amato RJ, Shingler W, Goonewardena M *et al.* Vaccination of renal cell cancer patients with modified vaccinia Ankara delivering the tumor antigen 5T4 (TroVax) alone or administered in combination with interferon-alpha (IFNalpha): a Phase 2 trial. *J. Immunother.* 2009; **32**: 765–72.
- 79 Hawkins RE, McDermott C, Shablak A *et al.* Vaccination of patients with metastatic renal cell cancer with modified vaccinia Ankara encoding the tumor antigen 5T4 (TroVax) given alongside interferon-alpha. *J. Immunother.* 2009; **32**: 424–9.
- 80 Kim DW, Krishnamurthy V, Bines SD, Kaufman HL. Trovax, a recombinant modified vaccinia Ankara virus encoding 5T4. Lessons learned and future development. *Hum. Vaccin.* 2010; **10**: 1–8.
- 81 Dunn GP, Bruce AT, Ikeda H *et al.* Cancer immunoeediting: from immunosurveillance to tumor escape. *Nat. Immunol.* 2002; **3**: 991–8.
- 82 Rescigno M, Avogadri F, Curigliano G. Challenges and prospects of immunotherapy as cancer treatment. *Biochim. Biophys. Acta* 2007; **1776**: 108–23.
- 83 Parmiani G, Castelli C, Dalerba P *et al.* Cancer immunotherapy with peptide-based vaccines: what have we achieved? where are we going?. *J. Natl. Cancer Inst.* 2002; **94**: 805–18.
- 84 Uemura H, De Velasco MA. Tumor vaccines in renal cell carcinoma. *World J. Urol.* 2008; **26**: 147–54.

特

集

消化器がんにおけるがんワクチン療法

Gastrointestinal
Research

テラーメイドがんペプチドワクチン療法

山田 亮*

Summary

久留米大学グループでは、1999年に国内初のがんペプチドワクチン臨床試験を開始して以来、多くの臨床試験を実施し、個々の患者の免疫メモリーに対応するがん抗原ペプチドを投与するテラーメイドがんペプチドワクチン療法を開発した。これにより、ワクチン投与開始の早期より高いレベルの免疫応答が誘導されるようになり、臨床効果も得ることが可能となった。2010年には前立腺がんを対象に高度医療（第3項先進医療）に認定され、実用化に向けての治験も開始されている。

Key words

がんワクチン ペプチドワクチン テラーメイド 臨床試験 細胞傷害性T細胞 (CTL)

はじめに

ヒトがん抗原 melanoma antigen-encoding gene (MAGE)-1 がはじめて報告¹⁾されてから20年あまりが経過し、前立腺がんを対象とするがんワクチン sipuleucel-T (PROVENGE[®]) が米国食品医薬品局 (Food and Drug Administration : FDA) により医薬品承認されるなど、がんワクチン療法もがん治療法の1つとして市民権を得つつある。国内においても多くのがんワクチンが開発され臨床試験が実施されているが、いまだ医薬品承認に至っていない。久留米大学グループでは、がんペプチドワクチンの国内初の臨床試験を1999年に開始して以来、多くの臨床試験を実施してきた²⁾³⁾。本稿では、われわれが開発したテラーメイドがんペプチドワクチン療法の開発経緯

と実用化に向けての取り組みについて述べる。

1 テラーメイドペプチドワクチンとは

米国やヨーロッパでメラノーマ患者をはじめとして多種のがんを対象としたペプチドワクチンの臨床試験が多数実施されてきたが、期待されるような臨床効果はほとんど得られていない⁴⁾。それらは、がん細胞に高発現している抗原由来のペプチド1~2種を用いたものである。われわれのグループでも、初期のペプチドワクチン療法の臨床試験では特定のがんにおいて優先的に高発現している抗原1種を用いたペプチドワクチン療法を実施したが、臨床効果はまったく認められなかった²⁾³⁾。この原因としては、患者体内における免疫が誘導されるまでに長い時間を要すること、この

*YAMADA Akira/久留米大学先端癌治療研究センターがんワクチン分子部門

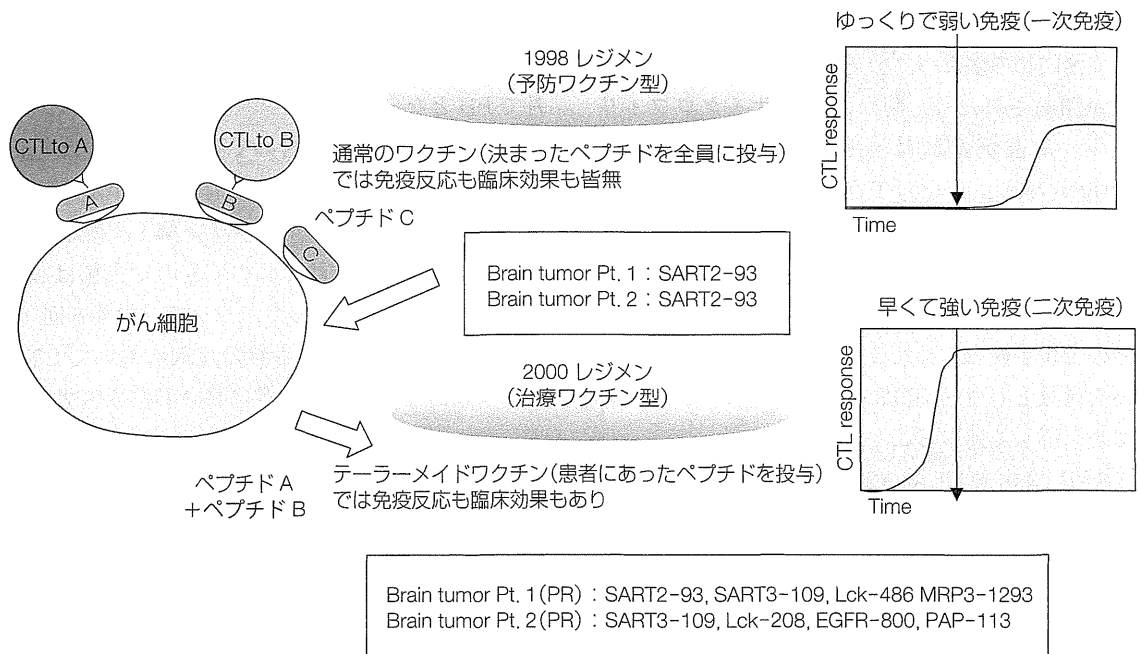


図 1. テラーメイドペプチドワクチンの誕生

あいだにがん細胞は増殖をつづけ、結果として臨床効果に結びつかなかったことが想定された。

ワクチン投与開始前よりペプチド反応性の細胞傷害性 T 細胞 (cytotoxic T-lymphocyte : CTL) およびヘルパー T 細胞のメモリー T 細胞が存在していることが見出されたことより、このメモリー T 細胞に対応する抗原ペプチドを患者にワクチンとして投与すれば、二次免疫応答として早期より強いレベルの免疫応答が誘導され臨床効果を得ることが可能と考えられた (図 1)。この場合、個々の患者によりメモリーが異なるため、投与されるワクチンペプチドも異なってくる。それゆえ、われわれはこのメモリーに対応する抗原ペプチドを最大 4 種用いるワクチン療法をテラーメイドワクチン (英語では personalized vaccine) とよぶことを提唱している²⁾³⁾。

開発当初は、human leukocyte antigen (HLA)-A24 および HLA-A2 陽性の患者を対象とした臨床試験を実施した。これらの HLA 型に対応するワクチン候補ペプチドは約 30 種からなっている。

これらのなかから個々の患者に最適なペプチドを最大 4 種選択し、フロイントの不完全アジュバント (incomplete Freund's adjuvant : IFA) (Montanide ISA51) とともにエマルジョンとして皮下投与した。2000 年 10 月から開始され、ワクチン候補ペプチドの入れ替えなどを経て 500 症例以上が試験に参加している²⁾³⁾。2007 年からは HLA-A2, -A3 スーパータイプ (-A3, -A11, -A31, -A33), -A24, および -A26 陽性の患者を対象とした、汎 HLA 型対応ペプチドワクチンの臨床試験を実施している⁵⁾。日本人の 99% 以上がこれらのいずれかの HLA 型を有することから、これらに対応するペプチドセット 31 種のなかから選択することにより、日本人ほぼ全員に対応可能となった。

2 消化器がんを対象とした臨床試験

1) 非テラーメイドワクチン

Boon 博士ら¹⁾による初のヒトがん抗原の報告が 1991 年になされ、その後 1990 年代中頃より欧米でがんペプチドワクチンの臨床試験が開始され

た^{2)~4)}。わが国では1999年より久留米大学において国内初のがんペプチドワクチン第I相臨床試験が開始された²⁾³⁾。肺がんにはサイクロフィリンB、食道がんにはsquamous cell carcinoma antigen recognized by T cells (SART) 1、大腸がんにはSART3由来のペプチドが用いられた。これらの抗原はそれぞれのがん組織および細胞株において高発現しており、かつ大半の患者においてその発現が確認されたことから選ばれた。大腸がんを対象としたSART3ペプチドワクチンについて少し詳しく述べることにする。

SART3由来HLA-A24拘束性の2種のペプチドについて、12例の進行大腸がん患者を対象として用量増量試験を実施した⁶⁾。その結果、ワクチン投与に関連する重篤な有害事象は認められなかった。免疫誘導に関しては、7割の患者において投与ペプチドの対するCTL反応が増強され、高用量(3mg)群で最も高い効果が認められた。しかしながら、臨床効果はほとんどみられず2サイクル以降は全例progressive disease (PD)となった。

2) テーラーメイドワクチン

その後、HLA-A2およびHLA-A24陽性患者を対象としたテーラーメイドペプチドワクチンの第I相臨床試験を、北海道大学と共同で実施した。進行胃がんを対象とした第I相臨床試験では13例が登録された⁷⁾。うち4例はスキルス型であった。ワクチン投与に関連する重篤な有害事象は認められなかった。無増悪生存期間(progression free survival: PFS)は82日、全生存期間(overall survival: OS)は212日であった。とくにスキルス胃がん症例では長期生存が得られたことから、ワクチン療法はタイトな腫瘍塊を形成しないスキルス型に適していることが示唆された。進行大腸がんを対象としたテーラーメイドペプチドワクチンの第I相臨床試験では10例が登録された⁸⁾。Partial response (PR)は1例で認められ、7ヵ月

以上持続した。Stable disease (SD)も1例、7ヵ月持続した。ほかの8例に関しては、3ないし4ヵ月でPDとなった。

上記の2つの試験を含めて消化器関連では、進行大腸がん28例、胃がん14例、食道がん3例がテーラーメイドペプチドワクチン第I相臨床試験に登録された⁹⁾。それぞれのOSの中央値は237日、139日、85日であった。ワクチン投与6回(1サイクル)後では、約半数の症例においてCTLの増強が、また6割の症例において投与ペプチドのいずれかに対する免疫グロブリンG (IgG)抗体の増強が認められた。OSと関連する因子の検索をおこなったところ、IgG抗体の早期増強とOSとのあいだに高い相関が認められた。一方で、CTL反応の増強や遅延型過敏症反応とのあいだには相関は認められなかった。

つぎに、進行胃がんおよび大腸がん患者を対象として、テーラーメイドペプチドワクチンとテガフル・ギメラシル・オテラシルカリウム(S-1)との併用療法の臨床試験を実施した¹⁰⁾。米国国立がん研究所(National Cancer Institute: NCI)の有害事象分類(Common Terminology Criteria for Adverse Events: CTCAE)グレード3の貧血および白血球減少が各1例発生したが、ワクチンとの関連性なしと判断された。投与ペプチドに対するIgG抗体に関しては、S-1の併用量にかかわらず1サイクル(6回)終了後より増強が認められた。一方、CTLに関しては高用量(80mg/m²/day)のS-1併用群においてより強い増強効果が認められた。これらの結果は、常用量のS-1併用は免疫反応を抑制しないばかりか、かえって増強するという従来の常識を覆すものであった。本研究以降、抗がん剤とワクチンとの併用療法の開発が、ほかのがん種に対してもおこなわれるようになった。

進行膵がんを対象としたテーラーメイドペプチドワクチンの第I相臨床試験は、山口大学との共同で実施され、免疫増強効果および安全性が確認

1. ワクチン関連の重篤な副作用なし
2. 臨床評価：5例の奏効, 10例不変, 5例増悪
3. 高い免疫賦活率：細胞性免疫 80%
液性免疫 85%
4. OS(中央値)：9.0 ヶ月

ワクチン群を免疫反応性(1クール終了時)で層別解析すると
免疫増強群のOSは15 ヶ月
免疫非増強群のOSは7 ヶ月

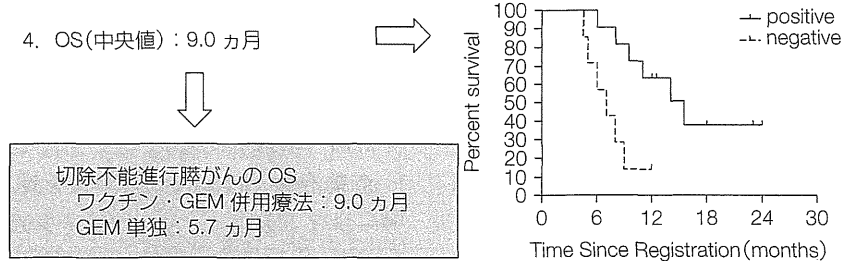


図 2. 切除不能進行胃癌に対するファーストライン治療としての GEM/テラーメイドペプチドワクチン併用療法の臨床効果

された¹¹⁾。つぎに切除不能胃癌に対するファーストライン治療として、ゲムシタピン塩酸塩(ゲムシタピン, GEM)との併用療法の臨床試験を関西医科大学ほかと実施した¹²⁾。全 21 例中 7 例が PR, 9 例が SD, 5 例が PD であり, OS の中央値は 9.0 ヶ月, 1 年生存率は 38%であった。GEM 単独療法の OS 5.7 ヶ月および 1 年生存率 18%と比較して, きわめて有望な成績が得られた(図 2)。

3) 汎 HLA 型対応テラーメイドワクチン

2007 年からは, HLA-A2, -A3 スーパータイプ(-A3, -A11, -A31, -A33), -A24, および-A26 拘束性の CTL エピトープペプチド 31 種類(当初は-A26 を除く 24 種類)のなかから, 個々の患者の HLA 型およびワクチン投与前のペプチド反応性(抗ペプチド IgG 抗体)に応じて投与ペプチドを決定する, 汎 HLA 型対応ペプチドワクチンの臨床試験を実施している⁹⁾。日本人の 99%以上がこれらのいずれかの HLA 型を有することから, これらに対応するペプチドセット 31 種のなかから選択することにより, 日本人ほぼ全員に対応可能となった。高度進行がん患者を対象とした第 I 相臨床試験には 17 例が登録された⁹⁾。ワクチン

関連の重篤な有害事象は認められず, 汎 HLA 型対応テラーメイドワクチンにおいても安全性が確認された。CTL の増強は解析可能な 13 例中 11 例において, また, 投与ペプチド特異的な IgG 抗体の増強は 13 例中 10 例において認められた。

4) 有害事象

有害事象に関しては, 消化器がん以外の症例も含む 500 例について解析した¹³⁾。その結果, ほとんどの有害事象は米国 NCI の CTCAE ではグレード 2 以下の軽度なものであった。グレード 3 以上でワクチンとの関連性が示唆されたものは 6 件であった。うち 2 件は注射部位およびその周辺の皮膚反応であった。直腸出血および膀胱穿孔が子宮頸がん症例で発生した。これらはいずれの症例においてもがんが浸潤した箇所であつ強力な免疫応答が誘導された時点で発生していることから, がん組織が CTL により破壊された結果有害事象が発生したと考えられた。これらのことより, がんペプチドワクチンは抗がん剤にくらべ, きわめて安全性は高いが, 臨床効果と乖離不能な有害事象が起こりうる可能性が潜在的にあることが示された。

3 ■ バイオマーカーの探索

がんワクチンの臨床効果は、がんの進行を遅らせることによる OS の延長である。したがって、臨床試験を効率よく進めるにはワクチン投与患者の OS と関連するバイオマーカーをみつける必要がある。これまでの試験結果より、ワクチン開始時のリンパ球数およびワクチン投与後の抗ペプチド IgG 抗体の早期上昇が、OS と関連することが判明している。炎症反応はがん細胞の増殖を促進することが知られていることから、炎症性サイトカインがバイオマーカーとなる可能性も示唆されている。

4 ■ 実用化に向けての取り組み

テラーメイドがんペプチドワクチン療法は、前立腺がんを適応症として 2010 年 6 月 1 日付で厚生労働省より高度医療（第 3 項先進医療）として認定された。具体的には、肝機能や腎機能の低下などの理由によりドセタキセル水和物（ドセタキセル）不適格であるホルモン不応性再燃前立腺がんであり、かつ HLA-A24 陽性であるものに限定されている。ワクチンにかかわる費用は患者の全額負担であるが、高度医療に認定されたことで併用療法に関しては健康保険が適応されることになり、患者の経済的負担軽減に大きく貢献することになった。この制度は海外承認国内未承認薬のドラックラグ解消や適応外使用に対応するために新設されたものであり、国内国外いずれにおいても未承認の薬が薬事承認以外の形で認められた最初のケースとなった。

久留米大学発ベンチャー企業、株式会社グリーンペプチドは、HLA-A24 陽性のホルモン不応性再燃前立腺がんを対象としたテラーメイドがんペプチドワクチン・低用量エストラムスチンリン酸エステルナトリウム水和物（エストラムスチン）併用療法の治験（第 I 相臨床試験および継続投与試験）を 2005 年より実施した¹⁴⁾。試験には

15 名の患者がエントリーし、重篤な有害事象は認められず安全性が確認された。また、OS の中央値は 22.9 ヶ月であった。アカデミアでの臨床研究の結果が good clinical practice (GCP) 下でコントロールされた多施設共同試験においても再確認されたことは、実用化に向けて非常に大きな意義をもっている。現在、グリーンペプチド社は、去勢抵抗性再燃前立腺がんを対象とした次相試験を計画・準備中である。

企業治験とは別に、膠芽種を対象としたテラーメイドがんペプチドワクチンの第 III 相臨床試験が、医師主導治験として実施中である。また、ポストテラーメイドワクチンとして位置づけられる汎 HLA 型対応カクテルワクチンの第 I 相臨床試験も、去勢抵抗性前立腺がんを対象とした医師主導治験として開始予定である。

おわりに

新しい分子標的薬や抗体医薬がつぎつぎと医薬品承認されつつあり、これらにがんペプチドワクチンが名を連ねるようになるのも夢物語ではなくなった。患者にとって治療の選択肢が広がることは好ましいことであるが、一方で治療費の高騰・患者負担の増大と保険医療の崩壊が危惧されている。前述の sipuleucel-T では、3 回の治療で 92,000 ドルという膨大なコストがかかる。細胞療法に比べ原価の安いペプチドワクチンに対する期待が、医療経済の観点からも今後高まるであろう。

文 献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P *et al*: A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* **254**: 1643-1647, 1991
- 2) Itoh K, Yamada A: Personalized peptide vaccines: A new therapeutic modality for cancer. *Cancer Sci* **97**: 970-976, 2006
- 3) Itoh K, Yamada A, Mine T *et al*: Recent

- advances in cancer vaccines : an overview. *Jpn J Clin Oncol* **39** : 73-80, 2009
- 4) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP : Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. *Nat Med* **10** : 909-915, 2004
 - 5) Yamada A, Noguchi M, Komatsu N *et al* : Phase I clinical study of a personalized peptide vaccination available for six different human leukocyte antigen (HLA-A2, -A3, -A11, -A24, -A31, and -A33)-positive patients with advanced cancer. *Exp Ther Med* **2** : 109-117, 2011
 - 6) Miyagi Y, Imai N, Sasatomi T *et al* : Induction of cellular immune responses to tumor cells and peptides in colorectal cancer patients by vaccination with SART3 peptides. *Clin Cancer Res* **7** : 3950-3962, 2001
 - 7) Sato Y, Shomura H, Maeda Y *et al* : Immunological evaluation of peptide vaccination for patients with gastric cancer based on pre-existing cellular response to peptide. *Cancer Sci* **94** : 802-808, 2003
 - 8) Sato Y, Maeda Y, Shomura H *et al* : A phase I trial of cytotoxic T-lymphocyte-precursor-oriented peptide vaccines for colorectal carcinoma patients. *Br J Cancer* **90** : 1334-1342, 2004
 - 9) Mine T, Sato Y, Noguchi M *et al* : Humoral responses to peptides correlate with overall survival in advanced cancer patients vaccinated with peptides based on pre-existing peptide-specific cellular responses. *Clin Cancer Res* **10** : 929-937, 2004
 - 10) Sato Y, Fujiwara T, Mine T *et al* : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination in combination with a 5-fluorouracil derivative (TS-1) for advanced gastric or colorectal carcinoma patients. *Cancer Sci* **98** : 1113-1119, 2007
 - 11) Yamamoto K, Mine T, Katagiri K *et al* : Immunological evaluation of personalized peptide vaccination for patients with pancreatic cancer. *Oncology Rep* **13** : 875-883, 2005
 - 12) Yanagimoto H, Shiomi H, Satoi S *et al* : A phase II study of personalized peptide vaccination combined with gemcitabine for non-resectable pancreatic cancer patients. *Oncol Rep* **24** : 795-801, 2010
 - 13) Yoshida K, Noguchi M, Mine T *et al* : Characteristics of severe adverse events after peptide vaccination for advanced cancer patients : analysis of 500 cases. *Oncol Rep* **25** : 57-62, 2011
 - 14) Noguchi M, Uemura H, Naito S *et al* : A phase I study of personalized peptide vaccination using 14 kinds of vaccine in combination with low-dose estramustine in HLA-A24-positive patients with castration-resistant prostate cancer. *Prostate* **71** : 470-479, 2011

BENCH to CLINIC

研究室と明日の医療をつなぐ パイオニアたちの挑戦

連載監修／川上浩司 (京都大学大学院医学研究科薬劑疫学)

第5回 がんペプチドワクチンの開発

～アカデミアからの挑戦

山田 亮 (久留米大学先端癌治療研究センター), 伊東恭悟 (久留米大学医学部免疫・免疫治療学講座)

がんワクチン療法とは、がん抗原ペプチドを投与することにより患者体内にがんを破壊する細胞傷害性T細胞を誘導する治療法である。医薬品の多くは製薬企業が主体となって開発が進められているが、がんワクチンに関しては世界的にアカデミア主導で開発が進められている。われわれはわが国ではじめてがんペプチドワクチンの臨床試験を開始し、一部のがん種に対してはすでに高度医療としての承認を得るに至った。また医薬品としての実用化に向けベンチャー企業を設立し、薬事承認のための治験も実施している。本稿では、これまでの道のりと今後の展望を紹介する。

はじめに

細菌やキノコ由来の成分を利用して非特異的に免疫応答を増強するがん免疫療法は古くから知られており、今でも使用されている丸山ワクチンもこの類である。一方、今巷で話題になっているがんワクチンはそれらとは全く異なり、近代分子免疫学の成果そのものである。われわれは基礎の免疫学者でありながら、その研究成果を臨床へ応用すべく歩みつけている。未だ道半ばではあるが、これまでの道のりを紹介することにより若き研究者の参考になれば幸いである。

がんワクチンを実現可能にした1つの論文

1991年、T細胞により認識されるヒトのがん抗原がはじめて報告された。免疫学の長年の課題だったT細胞抗原受容体 (TcR) が1980年代中ごろに明らかにさ

れ、それを取り巻くシグナル伝達分子や共刺激分子が次々と明らかにされていった。また、TcRは抗原の断片ペプチドと主要組織適合抗原との複合体を認識していることも明らかとなっていたが、TcRにより認識される抗原は細胞内で複雑なプロセッシングを経たのちに主要組織適合抗原と複合体を形成して細胞膜に表出されることから、抗原そのものを同定することはきわめて困難であった。ベルギーのThierry Boon博士らはがん組織内に浸潤している細胞傷害性T細胞 (CTL) を大量に増やし、このCTL株により認識されるがん抗原の同定に挑んだのである。がん細胞のcDNAライブラリーを主要組織適合抗原であるHLA遺伝子とともにCOS-7細胞にトランスフェクションし、COS-7細胞上に主要組織抗原とがん抗原の複合体を発現させた。それらのなかからCTL株により認識されるがん抗原遺伝

子のクローニングを行ったのである。この方法により最初に同定されたのがMAGE-1 (melanoma antigen gene-1) である¹⁾。

細胞株の樹立が成否の分かれ目

われわれもこの論文がきっかけとなってヒトがん抗原の同定を行うべく着手した。最初に行ったのはCTL株の作製である。手術室から連絡が入るたびに、摘出したがん組織をもらいに手術室へ急行した。手術検体が手に入るのはいつも夕方。それからがん組織を破碎し、がん細胞と浸潤リンパ球とに分離、がん細胞とリンパ球の培養を行う。余った細胞の凍結保存が終了するのは夜中になることもしばしばであった。細胞が順調に増えてくれば培養プレートも数十枚になる。一夜にして細胞が死滅し、それまでの苦労が水の泡と化してしまうこともあり気が抜けない。もちろん休日などない。そんな日々が数年続いた。

多種多様ながん患者の組織からCTL株が樹立されると、いよいよがん抗原の遺伝子クローニングである。コーカソイドにとって悪性黒色腫（メラノーマ）は比較的ポピュラーながんであり、CTL株が容易に樹立可能であることから、欧米ではメラノーマ抗原の報告が相次いだ。わが国ではメラノーマは稀ながんであることから、メラノーマ以外の一般的ながん抗原の同定に挑んだ。CTL株を用いサイトカイン産生を指標にライブラリーのスクリーニングを行い、cDNAクローンが得られたら、さらにHLA結合モチーフを有するペプチドを合成し、それらのなかからCTLにより認識される抗原ペプチドの同定を行った。スクリーニングが最後まで貫徹できない場合も多々あったが、多くの苦難を乗り越え食道がんライブラリーより最初に同定されたがん抗原をSART1 (squamous cell carcinoma antigen recognized by T-cells 1) と命名した²⁾。SART1は食道がん以外の扁平上皮がんにも広く分布していた。以後、次々とがん抗原の同定を行い、100個以上のがん抗原タンパク質およびそれらに由来する数百個のがん抗原ペプチドを同定していった。それらのなかには未知の新規遺伝子も多数見つかかり、一部は機能解析も行った。

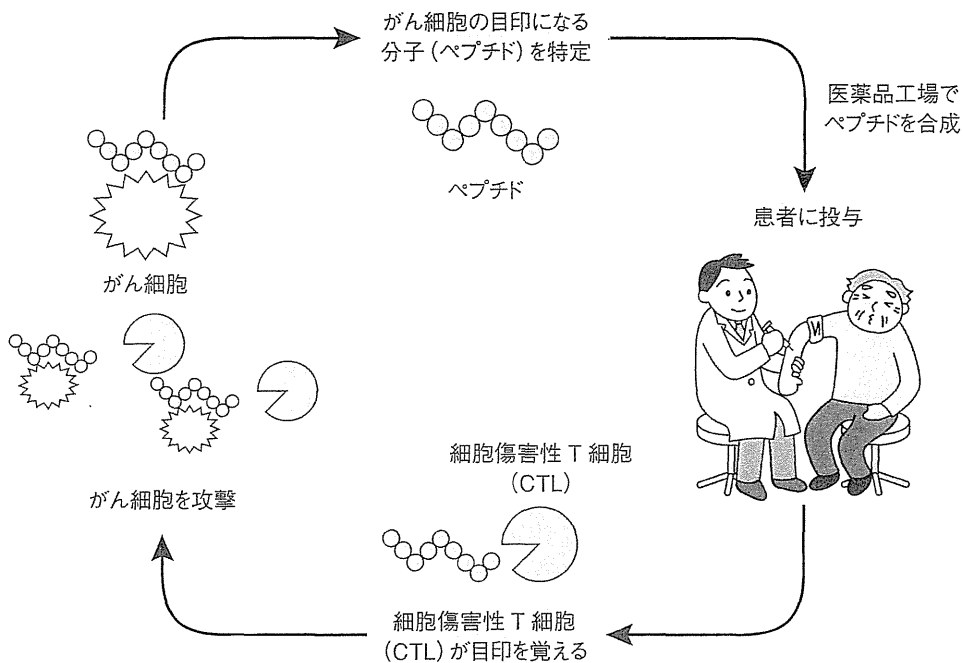
われわれがやらずして誰がやる！？

当時、世界中で新規がん抗原の同定が行われ、多くの論文が発表されたが、それらの論文は決まって、「がんワクチンへの臨床応用が期待される」で締めくくられていた。しかしながら、多くの研究者はその先の臨床応用へとは動かずに新たな抗原の同定といった並列的な研究をくり返していた。当時、「研究室での成果を臨床へ展開するのは研究者の務めではなく製薬企業の役割」という考えが研究者の常識であった。しかし、製薬企業にとってはがんペプチドワクチンという革新的医薬が将来的に医薬品となりえるのかどうか全く見当もつかず、丸山ワクチンなどの過去のトラウマにとりつかれ重い腰を上げようとはしなかった。

そこで、自分たちで臨床試験を開始すべく準備をはじめた。臨床試験の実施基準 (GCP) に詳しいドクターは学内にいるが、医薬品製造基準 (GMP) や薬事法に詳しい人材など医学部にはいない。いろいろな方のお世話になって、ようやくGMPグレードのペプチドを米国に発注することができた。臨床試験用の免疫増強剤 (Montanide ISA51) は論文を頼りにフランスのメーカーにメールを送り、何とか輸入することができた。非臨床試験の実施基準 (GLP) 準拠のラットを用いた毒性試験を実施するにも委託先の選定から試験内容の決定まで苦労の連続であった。幾多の苦難を乗り越え、臨床の先生方の協力を得て国内初のがんペプチドワクチンの臨床試験実施計画書が久留米大学の倫理委員会に提出されたのは1998年のことであった (図1)。

臨床試験の開始と失敗

倫理委員会に倫理審査を申請してから半年後の1999年3月により臨床試験実施計画が承認された。われわれの知る限り、大学研究者が自ら医薬品開発に乗り出した国内最初の例である。臨床試験の課題名は「肺および食道の高度進行・再発扁平上皮がんに対するSART-1ペプチドワクチンの第I相試験」, 研究代表者は外科学講座の山名秀明助教授 (当時) であった。その後、シクロフィリンBやSART-3由来ペプチドを用いた臨床試験が次々と開始されていった。対象疾患も肺腺がんや大腸がんをはじめとする種々のがんに拡大していった。患者登録も順調に進み、ワクチン投与患



● 図1 がんペプチドワクチン療法の原理
 細胞傷害性T細胞 (CTL) により認識されるがん抗原と同じ配列の合成ペプチドをワクチンとして患者に投与すると、体内でペプチド特異的CTLが増殖し、がん局所に移動してがん細胞を攻撃・破壊する

者の末梢血中には期待通りに投与ペプチドに反応するCTLも誘導されることがわかった。ところが、臨床効果に関しては全く手ごたえがなかったのである。米国の国立がん研究所のSteven A. Rosenberg博士も500例のがん患者のうちペプチドワクチン奏効率はわずか2.6%であるという絶望的な発表を同時期に行った。

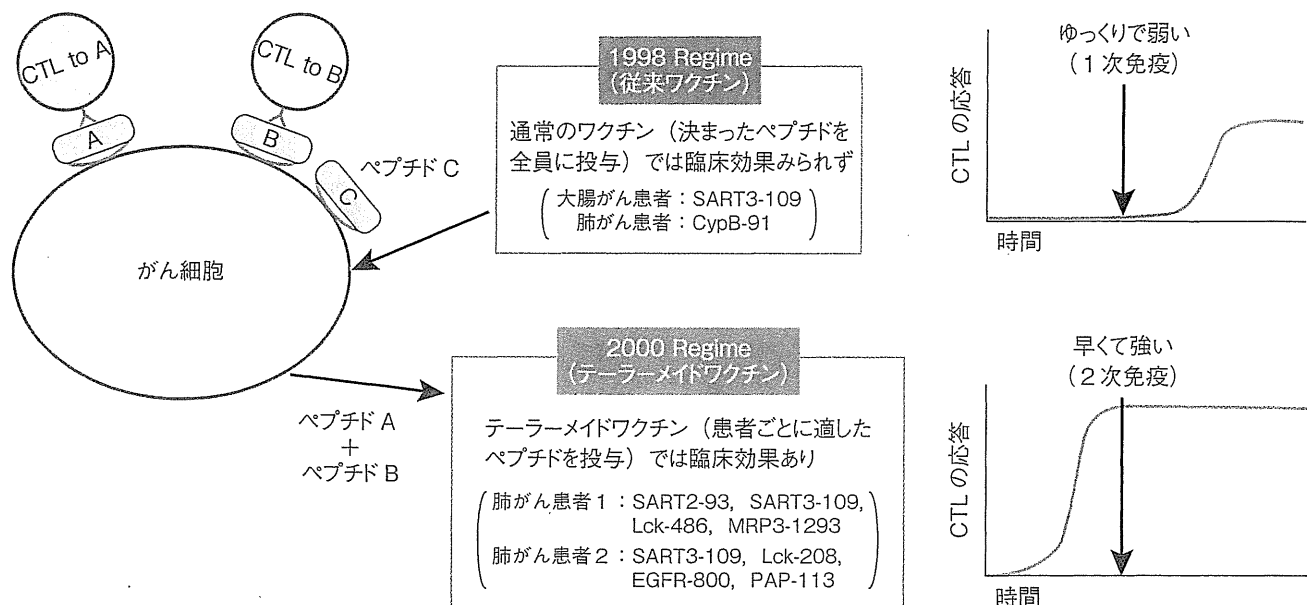
われわれは、投与したペプチド以外のワクチンペプチドをコントロールとして免疫解析を進めるうちに、ワクチン投与前からコントロールペプチドに対するCTLや抗体が存在する患者がいることを発見した。当初は実験に携わった大学院生がペプチドを取り違えたくらいにしか考えていなかったが、この発見はわれわれを成功へ導く大きな一歩となった。すなわち、ワクチン投与前からがんに対する免疫は弱いながらも患者の体内に存在しているのである。免疫学の講義では1次免疫応答と2次免疫応答の話を学生に対し行っている。1次免疫応答、すなわちはじめての抗原に曝されたときに誘導される免疫応答に比べ、同じ抗原に2回目以降曝された場合、すなわち2次免疫応答ではより短期間で高いレベルの免疫応答が得られるということ。もし

かしたら、われわれはこれまで1次免疫応答をワクチンで誘導しようとしていたのではないかと臨床効果が得られなかったのは免疫誘導できるまでに時間がかかりすぎてその間にがんが進行してしまったからではないだろうか？ 2次免疫応答を誘導することができたならより早期から、より強い免疫応答を誘導でき、がんの進行に打ち勝つことができるのではないだろうか？

テーラーメイドがんペプチドワクチン療法の誕生

そこで、それまでに同定されたがん抗原ペプチドに対するCTL誘導能を個々の患者で調べ、それらの中から免疫反応性の高い、すなわち免疫記憶の高いペプチド上位4位をワクチンとして投与する臨床試験を開始した³⁾⁴⁾。その結果、従来のものに比べより早期から高いレベルのCTL誘導が可能となり、臨床効果も得られるようになった。

ここで新たな問題に直面した。それは免疫検査の再現性の問題であった。末梢血を採血後、単核球を分離し2週間培養、その間にペプチドによる抗原刺激を数



● 図2 テーラーメイドがんペプチドワクチンの誕生

従来型のワクチンではがんの種類ごとに投与するペプチドは一定である。一方、テーラーメイドペプチドワクチンでは個々の患者の免疫記憶に対応するペプチドが投与されるために、同じがん種であっても患者ごとに異なるペプチドが投与される。テーラーメイド化により、より迅速に、より高いレベルの免疫誘導が可能となり、臨床効果が得られるようになった。

回繰り返し、その後細胞を回収して新たな培地の中で抗原ペプチドと抗原提示細胞による刺激を行い上清中に産生されるインターフェロン γ 量をELISA法で測定するというものであるが、培養期間が長く、かつ煩雑な作業が加わるために多くのバイアスがかかる。また、他施設共同研究の場合にはサンプル輸送のバイアスも加わる。CTL検査に関しては現在でも標準化の試みが世界中でなされているが未だ確立されていない。そこで、われわれはより種々のバイアスを受けにくい血漿中のIgG抗体に注目した。IgG抗体の産生にはヘルパーT細胞の存在が必須である。この点はCTLでも同様である。それならば、あるペプチドに対するIgG抗体の存在はヘルパーT細胞の存在を示し、このヘルパーT細胞は同一抗原に反応するCTL誘導もヘルプするはずである。ということは、CTL前駆細胞の存在を調べる従来の方法の代わりにIgG抗体測定を実施すればよいのではないかと。実際にワクチンを投与した患者のCTLとIgG抗体の検査結果を比較したところ、両者は相関することが示された。そこで、現在はワクチン候補ペプチドに対するIgG抗体量を測定し、抗体量の高いペプチド上位4種をワクチンとして使用している。個々

の患者のペプチド反応性（=免疫記憶）は異なることから個々の患者に対応したペプチドワクチンという意味で「テーラーメイドがんペプチドワクチン」、英語表記では“personalized peptide vaccine”と呼称している（図2）。

ベンチャー企業の設立

それまでに得られた臨床試験データを持って製薬企業への技術移転を行おうとチャレンジしたものの、製薬企業による開発とアカデミアにおける臨床研究の間のギャップはきわめて大きかった。当時、大学発ベンチャーを設立することが国策として推進されており、企業と大学とのギャップをつなぐのがベンチャー企業の役割であると力説されていた。そこで、われわれもがんペプチドワクチン実用化のための大学発ベンチャー、株式会社グリーンペプタイトを2003年に設立した。会社経営など全くかかわったことのない大学人が今度は会社経営のイロハから勉強し、資金集めのためにベンチャーキャピタリストめぐりをする毎日が続いた。資金集めに奔走するかたわら、第I相治験（薬事承認のための臨床試験を治験という）の準備を開始した。“医



●写真 2007年ごろの研究室のメンバー
最前列中央の3名（左から山田，伊東，七條）でベンチャー企業を設立した

薬品製造販売指針“医薬品非臨床試験ガイドライン解説”といった、ベンチャーを設立しなければ一生目にする事がなかったであろう解説書を隅々まで読破し、医薬品医療機器総合機構（PMDA）との相談のために何回も上京した。ようやく第I相治験開始にこぎつけたのは2005年のことである。進行した膠芽腫（脳腫瘍の一種）と前立腺がん患者を対象とした2つの第I相治験が多施設共同試験として開始された。

死の谷

第I相治験が終了し、それまでの臨床研究で得られた結果とほぼ同様の臨床効果が確認された。次相試験に進めるためのPMDA相談も進むなかで大きな壁に行く手を塞がれてしまった。次相試験を実施するには最低でも20～30億円必要であり、全額資金調達のめどが立たないと試験が開始できないのである。それまでに集めた多額の資金は非臨床試験や製剤検討、第I相治験で使い果たしてしまっていた。ベンチャー企業が必ず遭遇するといわれている“死の谷”が訪れたのだ。創業当初に出資いただいたベンチャーキャピタリストはファンドの償還期限が迫っており、追加出資だけで

るところなど全くない。外資を含む大手製薬企業は次相試験の結果待ちという姿勢を崩さない。公的資金導入を含めあらゆる算段を尽くすが、そうおいそれと調達できる額ではない。時間ばかりが過ぎ、自転車操業の日々が数年続いた。

一方、大学における臨床研究はこの間も順調に進み、2009年にはがんワクチン外来を開設した。国内はもとより世界初の開設である。2010年には厚生労働省の高度医療（第3項先進医療）に国内外の未承認薬としては初めて承認された。ストップしていた企業治験も2011年、科学技術振興機構の委託開発事業に採択され、大手企業とのアライアンスも成立。なんとか“死の谷”から抜け出せそうなところまでたどりついた。

今後の展望

2011年12月より膠芽腫を対象とする第III相試験を医師主導治験として開始している。前立腺がんに対しては2012年度中には第III相試験が企業治験として開始見込みである。「テラーメイドがんペプチドワクチン」という世界に類を見ない革新的医薬品の開発は、薬効評価法が未だ確定していないために医薬品承認の際の

規制当局の出方が読めない。このことは開発を担当する製薬企業にとって大きなリスクとなる。今後は、アカデミアと企業および規制当局が協力して薬効および安全性の評価法を1日も早く確立し、ガイドラインを策定することが重要な課題である。一方で、より多くの患者に適応可能な汎用性の高いワクチンの開発も重要である。テラーメイドペプチドワクチンのために必要なHLA検査や免疫検査を実施せずに使用可能な“カクテルワクチン”の開発も行っており、第I相試験を医師主導治験として実施中である。

おわりに

患者さんとそのご家族の協力なくして医薬品開発は成し得ない。国内初のがんペプチドワクチン臨床試験が開始されてから13年、初期の試験に参加・ご協力いただいた患者さんはすでに全員亡くなられているが、名前と顔は今でも脳裏にしっかりと焼きついている。この場をお借りしてご冥福をお祈りしたい。

文献

- 1) van der Bruggen, P. et al. : Science, 254 : 1643-1647, 1991
- 2) Shichijo, S. et al. : J. Exp. Med., 187 : 277-288, 1998
- 3) Itoh, K. & Yamada, A. : Cancer Sci., 97 : 970-976, 2006
- 4) Sasada, T. et al. : Hum. Vaccin. Immunother., 8 : 1309-1313, 2012

参考図書

- 山田 亮 : 最新医学, 64 : 2349-2354, 2009
 山田 亮, 伊東恭悟 : 細胞, 43 : 100-103, 2011

Profile

山田 亮 (Akira Yamada)

久留米大学先端癌治療研究センターがんワクチン分子部門教授。同センター所長。1980年、北里大学薬学部卒業後、同大学大学院薬学研究科(薬学修士)を経て九州大学大学院医学研究科修了(医学博士)。'86年、久留米大学医学部免疫学講座助手。'87~'89年、米国カンサス大学微生物学部門およびハーバード大学ダナファーバー癌研究所へ留学。2003年より現職。同年、株式会社グリーンペプチドを伊東恭悟教授らと設立、現在まで取締役を兼務。

伊東恭悟 (Kyogo Itoh)

久留米大学医学部免疫・免疫治療学講座主任教授。医学博士。1974年、弘前大学医学部卒業後、医学部外科にて4年間臨床研究。その後、新規抗がん治療法開発の基礎研究のために東北大学歯学部口腔外科細菌学講座にて基礎免疫学の研究に従事。さらにアラバマ大学医学部外科および免疫学部門(2年間)、テキサス大学M.D.アンダーソン病院および腫瘍研究所の外科および免疫学部門(6年間)にて“腫瘍免疫学の研究”に従事。'92年より現職。

「Bench to Clinic」掲載一覧 (敬称略)

- | | | |
|--------------------|------------------------------|---|
| ● 第1回 (2012年5月号) | 外科医からバイオベンチャーの世界へ | 矢崎雄一郎 (テラ株式会社) |
| ● 第2回 (2012年7月号) | 産学連携の「死の谷」を越えて | 鍵本忠尚 (株式会社日本網膜研究所, アキュメンバイオフーマ株式会社, 九州大学) |
| ● 第3回 (2012年9月号) | 画像誘導手術デバイス開発における医工連携 | 波多伸彦 (ハーバード大学) |
| ● 第4回 (2012年11月号) | 患者自身の細胞を使ってつくる再生医療製品の開発 | 畠 賢一郎 (株式会社ジャパン・ティッシュ・エンジニアリング) |
| ● 第5回 (2013年1月号) | がんペプチドワクチンの開発 | 山田 亮, 伊東恭悟 (久留米大学) |
| ● 第6回 (2013年3月号予定) | 中期間型補助人工心臓の開発とバイオベンチャー設立 (仮) | 高谷節雄 (東京医科歯科大学) |

