

## がんワクチン等の品質及び有効性評価手法の検討に関する レギュラトリーサイエンス研究

研究代表者 山口照英 国立医薬品食品衛生研究所 主任研究官

### 研究要旨

生体が元来有するがん細胞に対する免疫応答を賦活化することにより抗腫瘍活性を発揮するがん免疫療法に適応される医薬品の開発が進展している。本年度はがんワクチンについて 2 つの課題について取り組んだ。

- 1) がんワクチンの品質管理においては組換えタンパク質を有効成分とする従来のバイオ医薬品の品質管理の考え方が参考に来る一方で、がんワクチンに固有の特性を踏まえた品質管理手法の構築が重要であると考えられる。本研究では、抗イデオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチンの現状について調査するとともに、従来の抗体医薬品との比較を踏まえて、抗イデオタイプ抗体の品質管理を考える上で重要となる事項について考察した。
- 2) がんワクチンの臨床試験や免疫応答性についての最新の論文や総説からいくつかの課題が浮かび上がってきている。免疫応答性をより最適化するための方法の重要性やがんによる免疫抑制からの解除の重要性が明らかになりつつある。

また抗免疫チェックポイント抗体を用いた臨床試験成績から免疫抑制の解除の重要性のみならず、がんワクチンの投与方法や製剤化の重要性が指摘されつつある。がんワクチンによる細胞性免疫の誘導の重要性に加えてむしろ従来アジュバント療法と異なる考え方が必要とされるかもしれない。さらに、がんワクチンに反応性ある患者と相違でない患者の絞り込みが、今度重要となってくる可能性が指摘された。

これらの要素を追記してがんワクチンガイドラインの最終案を提示した。

### 分担研究者

多田 稔 国立医薬品食品衛生研究所 生物薬品部 第三室長

### 協力研究者

柴辻正喜 医薬品医療機器総合機構・部長  
井口豊崇 医薬品医療機器総合機構・審査役  
朝倉 渡 医薬品医療機器総合機構・審査役  
野中孝浩 医薬品医療機器総合機構・主任専門員  
甘粕晃平 医薬品医療機器総合機構・審査専門員  
老邑温子 医薬品医療機器総合機構・審査専門員  
秦 利率 医薬品医療機器総合機構・審査専門員

### 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。樹状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 の臨床研究ウェブページによると既に 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。

非臨床試験では免疫応答性の種差もあり、必ずしも適切なモデル動物が存在するわけではないし、ヒト化モデルマウスを用いた検討も行われている

が必ずしもヒトに外装できるデータが得られるとは限らない。

また、臨床試験では特に従来の抗がん剤と異なり、MTD や DLT が見られないケースも多い。またがん抗原を発現していない患者に対してはがんワクチンの効果がない可能性があり、そのためにがん抗原の発現を評価するためのコンパニオン診断薬の開発も必要と思われる。また、治験初期で行われる多様ながん種の患者に対する試験の必要性についても、がん抗原の発現性の観点から再考する必要がある。

本年度はがんワクチンに関する最新のレビューや治験データを取り上げ、がんワクチン開発における課題を整理した。得られた結果はがんワクチンガイドライン作成に反映させることとした。

がんワクチンの品質特性解析やその管理手法に関して、有効成分として用いられる組換えタンパク質のうち、抗イディオタイプ抗体に着目し、抗イディオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチンの開発動向について調査すると共に、その品質管理手法について考察した。

## B. 研究方法

がんワクチンの臨床試験結果についての報告が相次いでおり、またこれらの臨床試験のレビューも出されていることから、がんワクチン開発における課題や臨床試験と免疫応答との関連などについて得られた情報について総説を含めて解析してみた。

各種文献情報等を参考に抗イディオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチン開発の現状について調査した。がんワクチンの有効成分としての抗イディオタイプ抗体の品質管理手法について考察した。

得られた結果と昨年度までの成果を重ね合わせ、ガイドライン案を作成した。

(倫理面への配慮)

本研究は調査研究であるため、倫理面への配慮を必要としない。

## C. 研究結果

### C-1. がんワクチンの臨床試験

最近のがんワクチンの臨床開発で大きな成果は免疫チェックポイント分子に対する抗体(抗CTLA-4抗体や抗PD-1抗体)で非常に顕著な臨床成績が得られている点であろう。これらの臨床試験で、がんによる免疫抑制の解除が非常に重要であり、免疫抑制解除を達成することによりがんワ

クチンの開発が進むと期待されている。一方で、がんワクチン抗原ペプチドを抗免疫チェックポイント抗体と併用した場合に、抗免疫チェックポイント抗体単独に比べてその効果がほとんど見られなかった点から、抗腫瘍免疫に対するメモリーで効果が発揮できるのではとの懸念も上がっている。

こういった点からも現時点でのがんワクチンの臨床試験で得られている結果を再評価することが有用と考えられる。

### C-2. がんワクチンに関する臨床試験結果とそのレビューについて

がんワクチンの臨床試験成績や最新の総説(Melero et al Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. Nat. Rev. Clin. Oncol.11, 509-524 (2014))を取り上げ、がんワクチンの臨床試験と免疫応答についてまとめてみた。

#### がんワクチンの開発戦略

宿主特異的かつ腫瘍特異的な免疫応答による治療効果があり得ることが知られており、長年の研究からこのような免疫応答を惹起したり亢進させたりする獲得免疫治療を目指した研究が行われている。抗腫瘍免疫療法は複雑であり、複数のコンポーネントから構成されていたり、そのうえ抗原や、アジュバント、抗原デリバリー系、投与ルートなどが最適化されているわけではない(表1)。免疫賦活化作用については、腫瘍による免疫抑制や免疫寛容機構との関係を考慮する必要がある。

#### 腫瘍抗原提示

がん抗原は多くの場合に自己抗原であり、高いアビディティを示すT細胞のT細胞受容体(TCR)はTCRレパートリーから除去されやすいということになる(表2)。一つのがん抗原に対する免疫応答により、腫瘍細胞の溶解反応等により他のがん抗原に対する免疫応答を惹起する効果があり(antigen-spreadingないしepitope-spreading) epitope-spreadingにより、非常に狭い抗原刺激により応答の弱点が補われる可能性がある。複数の抗原エピトープを持つような長いペプチド配列をがんワクチンとして用いることによりMHCのクラスIとクラスIIの両方を刺激することになり、免疫原性を改良することが可能となる。このようなMHCのクラスIとクラスIIの両方を刺激する抗原提示をクロスプレゼンテーションとよび、強い免疫応答を引き起こすがんワクチンとなると期待されている。

#### 抗原とアジュバント

T細胞に認識される多くのがん抗原はがん抗原特

異的な腫瘍免疫応答を引き起こすことが期待される。アジュバントはこのがんに対する細胞性免疫応答を亢進する効果が期待されている。効果的な免疫療法を行うために複数の抗原を使用したりアジュバントとの併用が確実に高い免疫応答を引き起こすのに用いられる。

### アジュバントやがんワクチンベクター

がんワクチンによる免疫誘導を増強するために多くの場合アジュバントとの同時投与が行われる。がんワクチン投与においては活性化によってタイプ1ヘルパーT細胞からのインターフェロン産生の活性化や細胞傷害性T細胞の活性化が起こることが期待される。それぞれ用いるアジュバントによって惹起される免疫応答に違いが知られている。

アルミニウムアジュバントや感染防御ワクチンに用いられてきた古典的なアジュバントは、液性免疫依存するタイプ2ヘルパーT細胞の活性化を引き起こすがタイプ1ヘルパーT細胞の活性化はほとんど起こさないとされている。

フロイントアジュバントのような水中油中水型乳剤が広くがんワクチンに用いられているが、現在までのところこれらのアジュバントを用いた臨床試験で効果的な結果が得られているわけではない。水中油中水型乳剤はワクチンの投与部位から徐々に放出されることを期待した製剤設計となっている。このような抗体を誘導させる免疫反応を期待する場合には効果的な戦略となっている。Hailmichaelらはこのような除放製剤設計による抗原投与は腫瘍特異的な細胞傷害性T細胞の応答には向いておらず、活性化された細胞傷害性T細胞は除放性刺激ゆえにワクチン投与部位にとどまりやすくなり腫瘍組織への移行が阻害されると報告している ( Hailmichael et al. Persistent antigen at vaccination sites induces tumor-specific CD8(+) T cell sequestration, dysfunction and deletion. Nat. Med., 19, 465-472 (2013) )。このような免疫応答の強さとがんに対する臨床効果との食い違いを説明しているともいえる。例えば glycoprotein 100 (gp100) ペプチドを水中油中水型乳剤と共に抗 CTLA4 抗体である Ipilimumab と併用して転移性メラノーマの患者に投与した場合に Ipilimumab 単独の効果と同等であり、gp100 の効果が認められていないことの説明として十分な細胞性免疫に対する刺激が得られていなかった可能性が考えられる。抗原刺激の方法の問題であるとするアジュバントとの投与方法の変更により効果の改善の可能性が期待される。

現時点では単一のアジュバントを用いた臨床試験で有効な抗腫瘍効果が認められていないことから、多くの場合、複数のアジュバントを用いる臨床試験が実施されている。これらには免疫原性の高いウイルスベクターやリポソームベクターを用いるようなケースもあり、抗原とアジュバントをどのように組み合わせるかについての検討が続けられている。このような観点から高いアジュバント効果を持ち、腫瘍抗原提示をする最適な細胞は樹状細胞と考えることができる。がん免疫治療に用いる最適な樹状細胞としては、抗原刺激した後、活性化、成熟させて適切な投与部位に導入することによって達成されるものと考えられている。

頸頭部がんや肺がんの同所性移植モデルマウスで、鼻腔内ワクチネーションが試みられているが誘導された CD8+T 細胞は脾臓への移行は起こらず粘膜に対してホーミングする特性を持っていた。抗原刺激としては樹状細胞において HLA クラス I を介した CD8+T 細胞の活性化が起こることが高い細胞傷害性T細胞の誘導につながると考えられる。

樹状細胞は抗原提示のみならず、骨髄性及び形質細胞系の樹状細胞では直接がん細胞を傷害し殺す作用を持つことが知られており、このような作用によってもバイスタンダード効果も期待される。

がん抗原の免疫賦活化効果を得るために複数の抗原投与レジメンを採用する場合も多い。最初にウイルスベクターや DNA ワクチン、あるいは mRNA により抗原投与を行った後で異なるベクターを用いて同じ抗原をブーストするといったように ( 例えばワクシニアウイルスベクターと fowlpox ウイルスベクターといった組み合わせである ) 非臨床試験からこのように同じ抗原を投与するのにベクターを変えることによって細胞性免疫をより活性化することができ、抗腫瘍効果が高いことが知られている ( Hallermalm, K et al Preclinical evaluation of a CEA DNA prime/protein boost vaccination strategy against colorectal cancer. Scand. J. Immunol. 66, 43-51 (2007), Ishizaki, H et al Heterologous prime/boost immunization with p53-based vaccines combined with toll-like receptor stimulation enhanced tumor regression. J. Immunother. 33, 609-617 (2010) )。

どのアジュバントが最も適しているのかを臨床的に実証することは困難であり、殆どデータは得られていない。そのために複数のアジュバントと抗原と合わせた臨床試験が実施されることが多く

なっている。

### がんによる免疫抑制を解除するための試み

腫瘍はさまざまなメカニズムを用いて宿主の免疫からの攻撃を避けることが可能であるが、そのメカニズムについて全てが明らかにされているわけではない。免疫原性を低下させたりがん抗原を消失させたりするような応答をするばかりでなく、大量の免疫抑制メディエーター産生することが知られている。このような免疫抑制性メディエーターとしては、アデノシン、キヌレイン、プロスタグランジン E2、TGF- $\beta$ 、VEGFA などが挙げられる(表3)。

がんの微小環境において Treg 細胞や myeloid-derived suppressor T cells (MDSCs) や腫瘍内マクロファージの誘導や活性化が起きている。このような免疫抑制性の細胞を除去、抑制し、がんワクチンの効果を増強する試みががんワクチンの投与と併行して行われている。低濃度のシクロフォスファミドは Treg レベルを低下させがん応答性の T 細胞の活性化を起こすことが知られている。

Treg 細胞とエフェクター細胞との動的な関係性についてはそれほど単純に理解できる状況ではなくさらに研究が必要である。腫瘍組織内の Treg レベルは数多くのがん種に亘って予後の悪さと相関しているとされるが、大腸がん患者の腫瘍内に浸潤している Treg 細胞数の検討から、Treg 細胞数がより多いほどむしろ全生存率 (OS) や無増悪生存率 (PFS) がよいという結果が報告されている。(Correale, P. et al.: Regulatory (FoxP3+) T cells tumor infiltration is a favorable prognostic factor in advanced colon cancer patients undergoing chemo or chemoimmunotherapy. J. Immunother. 33, 435-441 (2011))

IL-2 単独か IL2+gp100 ペプチドワクチン投与群に割り付けられたメラノーマ患者の Phase III 試験で治療に反応しなかった群よりも治療効果のあった群の方が Treg 細胞数の高いという結果も得られている。これらの結果から Treg 細胞の応答性は炎症誘発性と抗炎症性応答のバランスによって効果が異なってくるのではと考えられている。

ヒト Treg 細胞には少なくとも機能の異なる 2 つのサブセットが存在する。一つは誘導型の iTreg 細胞であり、末梢中で分化誘導され、直接免疫系の細胞を接触するのではなく TGF などの免疫抑制性のサイトカインを分泌することによる特性を持つ。もう一つの Treg 細胞は自然 Treg 細胞であり、免疫寛容や自己免疫疾患の抑制に関

与するものであり、胸腺で分化誘導され免疫系の細胞と直接作用することによりその抑制効果を発揮する。より Treg 細胞のサブセットの機能を明らかにするためには、それぞれのサブセットをノックダウンなどにより除去することによって初めて明らかにできるであろう。

微小腫瘍組織環境に存在する他の免疫抑制性の細胞を制御することにより免疫抑制を解除することができがんワクチンの効果をさらに亢進させることができるかもしれない。このターゲットとしては骨髄性抑制性マクロファージ (MDSC) などが挙げられる。

### 免疫チェックポイント因子の制御

免疫チェックポイント因子は通常過剰な免疫応答を制御するために機能しており、リンパ球の細胞膜上の受容体として機能している。免疫チェックポイント因子は CTLA-4 や PD-1/PDL-1 に限定されるものではない。がんワクチンに応答する T 細胞のクローナルな増幅を誘導するように免疫チェックポイント阻害剤が用いられる。PD-1 は抗原刺激に応答してクローナルな増幅にともない T 細胞上に一過性に誘導される分子であり、持続的な PD-1 の発現はアナジーを誘導したり排除されることになる。多くの腫瘍細胞は PD-1 リガンドである PDL-1 を発現しており、PDL-1 を発現している腫瘍は予後が悪いとされる。

2011 年に米国では抗免疫チェックポイント抗体である Ipilimumab (抗 CTLA-4 抗体) をがん治療薬として承認した。主要な作用としてはがん微小環境中の Treg 細胞を除去することによりがん免疫抑制からの解除により抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。転移性メラノーマを対象とした Phase III 試験で dacarbazine との併用により OS の顕著な亢進が得られている。また抗 PD-1 抗体についても有用な効果が得られており、さらに抗 PD-1 抗体と抗 CTLA-4 抗体との併用によって相乗効果が得られている。このように免疫チェックポイント分子に対する抗体により顕著な臨床効果が得られているということはがんによる免疫抑制からの解除ががんワクチンの治療効果を発揮するうえで重要なポイントとなることを示していると考えられる。一方で、また抗原投与が優れた臨床効果を示さない点については、抗原投与が免疫誘導を起こすほどの刺激になっていないか既に存在する抗原メモリーで十分なのか今後解明されなければならない課題である。

### がん種ごとのがんワクチン臨床効果と免疫応答

がん種別に分けたがんワクチンのこれまで得ら

れている臨床データについてまとめてみたのが表4である。いくつか顕著な効果を示す結果が得られているが、これらのデータの中でがんワクチンの対象患者の絞り込みが重要な課題となってきた。臨床効果があらかじめ予測される患者を選択し、効果のない患者に無駄な治療を施さないで済めば患者の負担も軽減される。

### C-3. ガイドライン作成に向けた議論

昨年度に引き続きがんワクチンのガイドラインについて、最新の学術動向に加えてPMDAの専門家やアカデミアの腫瘍免疫の専門家等の意見を聴取した。それらの意見とその対応策を以下にまとめた。:

1. LAK療法や非特異的免疫活性化療法に関する記述については今回の指針の範囲外と想定される。
  - LAK療法などの記載を削除し、全体としてペプチド/タンパク質を用いたがんワクチンに特化していることを明確にする
2. 樹状細胞等の抗原提示におけるクロスプレゼンテーションの記載については、クロスプレゼンテーションのがん免疫へのインパクトが十分に解明されていない。
  - 最近のがんワクチンの臨床試験を総括したレビューで、抗原提示細胞としての樹状細胞の重要性とクロスプレゼンテーションの重要性について言及されており、まだ確定的なことは言えないがクロスプレゼンテーションが重要か否かを評価しておくことは有用な情報をえることと考えられる。
  - Melero, I et al.: Therapeutic vaccines for cancer: an overview of clinical trials. *Nature Reviews, Clin. Oncol.* 1. 509-524 (2014)
3. 抗原特異的なヘルパーT細胞の測定法としてClass IIテトラマープローブについてはそれほど実績がなく、解析が困難な可能性がある。
  - Class IIテトラマーを用いた抗原特異的CD4ヘルパーT細胞の解析事例はそれほど多くの論文があるわけではないが、下記に示すような論文が出されている。Class IIに提示されるがん抗原の同定など今後の開発によって手法の開発が進む可能性があり、例示的に示すのは問題ないと判断
  - Novak, E.J. et al.: MHC class II tetramers identify peptide-specific

human CD4+ T cells proliferating in response to influenza A antigen. *J Clin. Invest.* 104, R63-69 (1999)

- Cecconi, Cecconi, et al.: Use of MHC Class II Tetramers to Investigate CD41 T Cell Responses: Problems and Solutions. *Cytometry, Part A* 73A: 1010-1018, 2008
4. 腫瘍免疫療法において、免疫活性化の評価手法として提唱されている標準抗原として「keyhole limpet hemocyanin, 液性免疫としての破傷風菌抗原、細胞性免疫の指標としてのphytohemagglutininへの応答性」を提唱しているが、その有用性について確立されているか。免疫応答性の評価法としての遅延型アレルギー反応の評価の有用性については?
    - 多くのがんワクチン臨床研究でがん特異抗原に対する遅延型アレルギー反応を解析している。一方、Her2抗原に対するがんワクチンでは破傷風菌抗原へのDTHを測定しており、乳がんでは7つの標準抗原 (tuberculin, tetanus, diphtheria, Streptococcus, Candida, Trichophyton, Proteus) に対するDTHを測定している。このようながんに特異的でない標準抗原に対するDTHを測定することの有用性については、現時点では不明な点が多い。このような標準抗原へのDTHの評価が、がん患者の免疫応答レベルの評価に使えるかどうかについては今度の解析データの積み重ねによると考えられる。
    - Schiffman K et al.: Breast Cancer Res Treat. Delayed type hypersensitivity response to recall antigens does not accurately reflect immune competence in advanced stage breast cancer patients. *74(1):17-23.* (2002)
    - Turner-Cobb, J.M. et al.: The interaction of social network size and stressful life events predict delayed-type hypersensitivity among women with metastatic breast cancer. *Inter. J. Psychophysiol.* 54, 241- 249 (2004)
  5. 非臨床データの有用性については、必ずしも明確でない。ヒトへの外挿性についても未だ不明な部分がおおい。特に動物モデルでは種差による免疫応答の違いが出てくる可能性

が高いと考えられる。また、用量設定や用法についてどこまで非臨床試験データから示すことが可能か。

- 非臨床データ出られたがんワクチンの用量については種差の点を考慮すると必ずしも外挿性があるともいえない。用法については最も免疫応答の高い用法として定量性は別にして考慮可能では。用量についてのみ記載を変更。

6. がんワクチンと併用されるアジュバントに関してがんワクチンとの併用による安全性試験のみならず単独での安全性試験は必要となるか。

- がんワクチンのアジュバントとしての範囲をどの程度にするかによって記載が変りうる。免疫増強物質を総称するとすると、抗原の徐放性を高めるアルミニウムアジュバントやフロイントアジュバントなどの物質のみならず、Toll-like受容体に結合する核酸、GM-CSFやIL-2, IL-4などの免疫系サイトカインなど多様である。場合によってはアジュバント単独で試験を実施する方が評価が容易である可能性も、現行のままとする。

7. がんワクチンの効果が発揮されてくるまで一定の時間が必要と想定される。その場合に投与直後には臨床効果が現れず病状が進行(PD)と判断されるような症状を呈する場合があります。治療の継続の判断が難しい。その場合に、PDとされる兆候があっても治療を継続する場合の判断基準をどのように説明するか。

- 例外事項プロトコールを患者救済措置と例示

8. マウスモデルでのがんワクチンの効果は追加免疫しなくてもメモリーセルによりがんが拒絶されるというデータが多い。マウスモデルでの追加免疫の効果の評価をヒトに外挿することが難しい可能性が高い。

がんワクチンの有効性を予測する試験として、追加免疫の評価は限界がある可能性があるが、安全性の観点からは長期に亘る反復投与の限界に言及していると考えて現行のままとする。

#### C-4 がんワクチンに用いられるイディオタイプ抗体に関する検討

イディオタイプとは抗体改変領域の抗原決定基のことであり、抗体の抗原結合の特異性は、その抗体に特徴的な構造(=イディオタイプ)に反

映されている。このような抗体の抗原結合部位(イディオタイプ)を認識する抗体が抗イディオタイプ抗体である。抗イディオタイプ抗体をワクチンとして投与することにより、抗原に対する免疫応答を誘導しようとする考え方は、1970年代に提唱されたイディオタイプネットワーク仮説に基づいている。すなわち、抗原Xに対する抗体(Ab1)は抗原Xを特異的に認識する抗原決定基(イディオタイプ)を有しており、Ab1のイディオタイプを認識する抗体(抗イディオタイプ抗体:Ab2)には抗原Xの高次構造を模倣した抗原決定基を有するものが存在するというものである。抗イディオタイプ抗体(Ab2)をヒトに投与すると、Ab2の抗原決定基(=抗原の構造を模倣している)に対する抗体(Ab3)が生産され、このAb3はAb1と同様に抗原Xを特異的に認識すると考えられる(図1)<sup>1)</sup>。このような抗イディオタイプ抗体を腫瘍関連抗原(Tumor-Associated Antigen; TAA)のサロゲートとして投与することにより、自己抗原であるTAAに対する免疫寛容の回避が期待できるほか、腫瘍特異的な糖鎖といった非タンパク質性の抗原に対する免疫応答の誘導が可能になる可能性がある。

これまでに臨床試験が実施された抗イディオタイプ抗体を有効成分とする癌ワクチンの例を表1に示す。腫瘍に特異的に発現するタンパク質の部分ペプチドを抗原とするがんペプチドワクチンとは異なり、癌特異的な糖鎖や糖脂質を標的とするものが多いことが特徴である。臨床試験で有効性が示されず開発中止となったものもあり、2014年時点で先進国での承認を得たものはないが、これら抗イディオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチンのうち、最も開発の進むRacotumomabについて以下にまとめた。

RacotumomabはN-グリコリルノイラミン酸(NeuGc)の結合したGM3(NeuGcGM3)を認識するIgM抗体に対する抗イディオタイプ抗体である。NeuGcGM3は非小細胞肺癌(non-small cell lung cancer; NSCLC)における癌抗原として知られており、RacotumomabはNeuGcGM3に対する免疫応答を誘導することにより、NSCLCに対する抗腫瘍活性を発揮する。既にキューバとアルゼンチンにおいて、再発性あるいは進行性のNSCLCに対する治療薬として承認されているほか、米国で進行性NSCLCに対する第三相試験が実施されている(NCT01460472)<sup>2)</sup>。

Racotumomabの開発者らは、ヒトと同様に正常組織にNeuGcが発現しないニワトリを実験動物として用いた非臨床評価系を構築し、

Racotumomab の品質特性とその薬理作用（抗 NeuGcGM3 抗体の誘導）の関係について報告している<sup>3,4</sup>。マウス腹水由来の Racotumomab とバイオリアクターで培養したハイブリドーマ由来の Racotumomab では抗体に付加する糖鎖構造、電荷プロファイル（アスパラギンの脱アミド化、酸化）が大きく異なり、構造安定性に違いが見られる一方で、免疫応答には影響しないとしている<sup>3</sup>。また、バイオリアクターの培養スケールの拡大に伴う翻訳後修飾の差異も免疫応答には影響しなかったことから、アジュバントであるアルミニウムと混合して投与される Racotumomab では可変領域の CDR の構造が抗原の構造を模倣しており、抗体 Fc 領域を介した作用は重要ではないと考察している<sup>4</sup>。

#### 参考文献

- 1) Ladjemi MZ ; Anti-idiotypic antibodies as cancer vaccines: achievements and future improvements. *Front Oncol.* 2:158 (2012)
- 2) Reichert JM ; Antibodies to watch in 2015. *MAbs.* 7(1):1-8 (2015)
- 3) Machado YJ, Rabasa Y, Montesinos R, Cremata J, Besada V, Fuentes D, Castillo A, de la Luz KR, Vázquez AM, Himly M ; Physicochemical and biological characterization of 1E10 anti-idiotypic vaccine. *BMC Biotechnol.* 22:11:112 (2012)
- 4) de la Luz-Hernández K, Rabasa Y, Montesinos R, Fuentes D, Santo-Tomás JF, Morales O, Aguilar Y, Pacheco B, Castillo A ; Cancer vaccine characterization: from bench to clinic. *Vaccine.* 32(24):2851-8 (2014)

#### D. 考察

本年度は、がんワクチンの最新の臨床試験結果やそれらをまとめたレビューについて評価を行った。がんワクチンの免疫応答としては、液性免疫を誘導することよりも主として細胞性免疫を誘導することを目指した検討が行われてきている。特にマウス等を用いた非臨床試験結果から、アジュバントの選択や投与方法などの制御により細胞性免疫を最も効果的に誘導する手法がとられてきている。

一方でがんワクチンについてこれまで、非常に多様な抗原を対象として臨床試験が実施されており、また投与したがん抗原に対する免疫応答をどのように評価するかが重要なポイントとなってきた。しかし、目的とするがん抗原のみならず

場合によってはがんワクチンを発現しているがん細胞が溶解することなどを通じてがん細胞が発現している他の抗原に対する免疫応答も起こりうることを示される場合がある。

さらに抗原提示に関しては樹状細胞が重要な役割を果たしており、抗原特異的な樹状細胞の分化誘導や活性化ががん免疫において重要とされてきており、特にクロスプレゼンテーションが起こることにより高い免疫誘導が期待されるとしている。

がん細胞が発現する様々な免疫抑制因子ががんワクチンの効果を阻害している可能性が指摘されており、がんによる免疫抑制からの解除が重要とされている。特に抗免疫チェックポイント抗体による顕著な臨床効果が確認されたことからがんによる免疫抑制からの解除が非常に重要と考えられる。

抗免疫チェックポイント抗体での臨床試験で gp100 の臨床効果が十分でない点に関しての可能性として免疫誘導を惹起するための投与方法をさらに改良する必要性を指摘する意見もある。

がんワクチンの被験者の絞り込みをするための免疫応答性に基づいた患者分類の重要性が指摘されている。より応答性の高い患者を絞り込むための免疫応答の評価法も重要であり、遅延型アレルギー反応の評価もその一つとされている。

投与された抗体そのものが生理活性物質として薬理作用を発揮することが期待される抗体医薬品では、薬理作用メカニズムに基づいた生物活性試験により、有効性に関わる品質特性とその範囲の特定が行われる。抗体医薬品の有効性に関わる品質特性としては、抗原結合に影響を及ぼす可能性がある CDR 領域の翻訳後修飾のほか、抗体依存性細胞傷害（ADCC）活性を薬理メカニズムとする抗体医薬品では、抗体 Fc 領域に結合する N-結合型糖鎖の構造等があげられる。一方、がんワクチンの有効成分として用いられる抗イデオタイプ抗体の場合、抗体自身による薬理作用（抗原結合、エフェクター活性）は求められず、抗原提示細胞へ取り込まれ、標的抗原を模倣した可変領域部位のペプチドが提示されることで、標的抗原に対する免疫応答を誘導する。このため、がんワクチンの有効成分として用いられる抗イデオタイプ抗体の品質評価・品質管理の上では、ヒトでの免疫応答を予測・評価可能な試験系の構築が重要であると考えられる。結果の項で述べた Racotumomab の品質特性と有効性（免疫応答）の関連に関する報告は、免疫応答性を評価可能な実験動物を用いた解析の良い例であるといえる。興味深いことに、マウス腹水由来とハイブリド-



マ培養上清由来の Racotumomab では、翻訳後修飾の違いにより電荷プロファイルに顕著な違いが検出され、高次構造及び熱安定性が異なる一方で、実験動物における免疫応答性には有意な差は認められていない<sup>3)</sup>。実験動物とヒトにおける免疫系の種差を考慮する必要はあるものの、これらの結果は、アジュバントであるアルミニウムと混合して投与される抗イディオタイプ抗体のがんワクチンとしての作用の発揮には、これらの構造特性の違いは影響しないことを示唆している。一方で、抗イディオタイプ抗体の Fc 領域を介した作用の必要性については、さらなる検討が必要であると考えられる。抗体 Fc 領域を介したマクロファージや樹状細胞等の抗原提示細胞上の Fc 受容体との相互作用は、抗原 - 抗体複合体の取り込みに関与している。従来の抗体医薬品においては凝集体が免疫原性（抗薬物抗体の産生）の要因の一つであると考えられており、そのメカニズムとして Fc 受容体を介した抗原提示細胞への取り込みが想定される。がんワクチンとして用いられる抗イディオタイプ抗体では、免疫原性そのものが目的とする薬理作用であり、Fc 領域を有する抗体がワクチンとして投与される際には、Fc 領域を介した抗原提示細胞への取り込みが薬理作用の発揮に寄与する可能性が考えられる。上記の Racotumomab に関する論文では、アフコシル化糖鎖含量など、従来の抗体医薬品において Fc 受容体との相互作用に関与することが明らかな品質特性には製造方法の違いによる顕著な差が認められていないが、アルミニウムとの混合状態での Fc 領域の構造および Fc 受容体との相互作用と薬理作用との関連については、検討の余地があると考えられる。また、Racotumomab の生産培養スケールの拡大に伴う品質特性の違いを報告した論文<sup>4)</sup>では、有意差はないとされているものの、ロット間で平均粒子径に差が認められており、平均粒子径の大きなロットほど高い薬理作用（免疫応答）を示す傾向が観察されている。一般的に凝集体の含有量が多いほど平均粒子径は増大することを考えると、凝集体含量が Racotumomab の有効性に関連している可能性も考えられる。

がんワクチンの有効成分として用いられる抗イディオタイプ抗体の品質管理の上では、ヒトでの免疫応答性を予測・評価可能な実験動物モデルを用いた評価系を活用し、Fc 領域を介した作用や凝集体の影響等を含めた、品質特性と有効性の関連について十分な検討が必要であると考えられた。

## E. 結論

がんワクチンの臨床試験や免疫応答性についての最新の論文や総説からいくつかの課題が浮かび上がってきている。免疫応答性をより最適化するための方法の重要性やがんによる免疫抑制からの解除の重要性が明らかになりつつある。

また抗免疫チェックポイント抗体を用いた臨床試験成績から免疫抑制の解除の重要性のみならずがんワクチンの投与方法や製剤化の重要性が指摘されつつある。がんワクチンによる細胞性免疫の誘導の重要性に加えてむしろ従来アジュバント療法と異なる考え方が必要とされるかもしれない。さらに、がんワクチンに応答性ある患者と相違でない患者の絞り込みが今度重要となってくる可能性が指摘された。

抗イディオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチンの現状について調査するとともに、従来の抗体医薬品との比較を踏まえて、抗イディオタイプ抗体の品質管理を考える上で重要となる事項について考察した。

これらの要素を追記してがんワクチンガイドラインの最終案を提示した（資料1；意見対応案、資料2；最終案）。

## F. 健康危険情報

なし

## G. 研究発表

- 論文発表
- 1) 山口照英：再生医療の安全性確保法と薬事法改正、レギュラトリーサイエンス学会誌（RSMP）、vol.4, No.3, 237 - 247(2014)
- 2) Maeda,D., Yamaguchi,T., Ishiduka,K., Takekita,T., Sato,D.: Regulatory Frameworks for Gene and Cell Therapies in Japan. in “Regulatory Aspects of Gene Therapy and Cell Therapy Products in Japan.” Springer, Serbian,M. & Galli,M.C. eds., in press
- 3) Hashii,N., Nakazawa,S., Tada,M., Yamaguchi,T.: Analysis of aggregation-prone regions in monoclonal antibody by hydrogen/deuterium exchange mass spectrometry. J. Pharma. Sci. in press
- 4) 内田恵理子, 古田美玲, 菊池裕, 窪崎敦隆, 遊佐精一, 宮原美知子, 佐々木裕子, 小原有弘, 大谷梓, 松山晃文, 大倉華雪, 山口照英: 日本薬局方参考情報収載マイコプラ



ズマ否定試験の PCR 法改正のための共同研究、マイコプラズマ学会雑誌（印刷中）

- 5) 内田恵理子，古田美玲，菊池裕，窪崎敦隆，遊佐精一，宮原美知子，佐々木裕子，小原有弘，大谷梓，松山晃文，大倉華雪，山口照英：細胞基材に対するマイコプラズマ否定試験の PCR 法の見直しに関する研究、医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス 45 (5), 442-451 (2014)

## G-2 学会発表

### H. 知的財産権の出願・登録状況

H-1 特許取得 なし

H-2 実用新案登録 なし

H-3 その他 なし

**表1 . がんワクチンキーポイント**

- 
- がんをワクチンで治療するという戦略が多く、最近の成果から臨床的な有効性を示せる結果が出つつある
  - がん免疫に関する理解、特に腫瘍微小環境の性質やダイナミズムの理解が進んだ
  - 多くの臨床研究からは従来のがん治療とワクチンの作用がどのように異なるのか十分な情報が得られていないが、腫瘍微小環境において働くがんによる免疫抑制機構が重要な作用をしていることが明らかにされつつある
  - 活性化免疫療法に対してベネフィットのある患者を選択するためのがんワクチンバイオマーカー開発が望まれている
  - 臨床試験の結果から有効性が期待されるのはがんが進行していない患者集団である可能性が示唆されている
  - 将来の戦略として腫瘍特異的な免疫応答を最適化するために腫瘍微小環境を制御する方法を開発するべきである
- 

**表2 . がんワクチンに用いられる抗原**

共通抗原

- がん精巢抗原 ; BAGE、GAGE、MAGE、NY-ESO-1
- 分化抗原 : CEA、gp100、Melan-A、PSA、Tyrosinase
- Overexpressed antigen : HER2、hTERT、p53、survivin

特殊抗原

- Oncogene-associated antigens:  $\beta$ -catenin-m、HSP70-2/m、KRAS Shared antigens with unique mutations
- Glycans: GM2、MUC1

アジュバント

- Cytokine/endogenous immunomodulators: GM-CSF、IL12
  - Microbes and microbial derivatives : BCG、CpG、Detox、MPL、polyI:C
  - Mineral salts : Alum
  - Oil emulsions or surfactants : ASO2、MF59、Montanide™ ISA-51、QS21
  - Particulates : ASO4、polyactide co-glycolide、viroosomes
  - Viral vector : Adenovirus、vaccinia、fowlpox
-

**表3 . がん細胞が作り出す宿主免疫を抑制する物質とその作用機作**

- 
- キヌレニン：トリプトファンの代謝酵素であるインドールアミン 2, 3-ジオキシゲナーゼ(IDO)が T 細胞および NK 細胞の増殖を抑制するがその作用を介在しているのがキヌレニンとされる。
  - アデノシン：抗炎症性 T 細胞反応を媒介し、Treg 細胞による免疫抑制の主要メカニズムの一つと考えられている
  - PGE2：肺癌などの悪性腫瘍で非常に高レベルに産生され、免疫機能をもつ Treg 細胞を活性化し、癌に対する患者の免疫力を弱めると考えられている
  - TGF $\beta$ ：T 細胞の活性化、増幅、分化を阻害し、CTL や樹状細胞の活性を阻害、さらにレギュラトリー T 細胞の分化を誘導する。
  - VEGFA：腫瘍由来の血管新生因子である VEGF-A と VEGF 受容体の相互作用により、免疫チェック分子を誘導する重要な要素と想定されている。抗 VEGF-A 阻害と抗 PD-1 阻害抗体による併用療法によりがんの免疫抑制解除と抗腫瘍効果が発揮される報告がある。
- 

- 1) Opitz CA, et al.: An endogenous tumour-promoting ligand of the human aryl hydrocarbon receptor. *Nature* 478, 197–203. (2011)
- 2) KM, Gao W, et al. Adenosine generation catalyzed by CD39 and CD73 expressed on regulatory T cells mediates immune suppression. *J Exp Med.* 204, 1257-1265. (2007)
- 3) Mizumoto N, Kumamoto T, Robson SC, et al. CD39 is the dominant Langerhans cell-associated ecto-NTPDase: modulatory roles in inflammation and immune responsiveness. *Nat Med.*;8:358-365. (2002)
- 4) Baratelli F et al.; Prostaglandin E2 induces FOXP3 gene expression and T regulatory cell function in human CD4+ T cells. *J Immunol.* 2005 Aug 1;175(3):1483-90.
- 5) Sharma S et al.: Tumor cyclooxygenase-2/prostaglandin E2-dependent promotion of FOXP3 expression and CD4+ CD25+ T regulatory cell activities in lung cancer. *Cancer Res.* 2005 Jun 15;65(12):5211-20
- 6) Walker, M.R. et al.: Induction of FoxP3 and acquisition of T regulatory activity by stimulated human CD4+. *J Clin. Invest.* 112, 1437-1443 (2003)
- 7) Voron T et al.: VEGF-A modulates expression of inhibitory checkpoints on CD8+ T cells in tumors. *J Exp Med.* Feb 9;212(2):139-48. (2015)

表4 . 臨床試験成績

免疫治療	抗原	アジュバント 免疫制御因子	対象患者	被験者数	臨床データ	論文
<b>前立腺がん</b>						
ワクシニアウイルスベクター と fowlpox ベクター	PSA	GM-CSF + co-stimulators	Metastatic, castration-resistant prostate cancer	125	<b>臨床効果</b> OS: 25.1 mo vs. 16.6 mo (HR 0.56; P=0.0061) PFS: 3.8 mo vs. 3.7 mo (HR 0.88; P=0.60) <b>免疫応答</b> No detectable antibody responses to PSA	Kantoff, P. W. et al. <i>J. Clin. Oncol.</i> <b>28</b> , 1099-1105 (2010). NCT01322490
アデノウイルスベクター	PSA	Vector	Recurrent/hormone-refractory prostate cancer	44	<b>臨床効果</b> Increase in PSA doubling time in 64% of patients <b>免疫応答</b> T cell response: 100% (recurrent disease) and 67% (hormone-refractory disease) of patients	Lubaroff, D. M. et al. <i>Cancer Res.</i> <b>72</b> , Abstr 2692 (2012).
mRNA: CV9103/9104, CureVac®	PSA + PSCA + PSMA + STEAP1	mRNA	Metastatic, castration-resistant prostate cancer	38	<b>臨床効果</b> Prolonged stabilization of PSA levels for individual patients <b>免疫応答</b> T cell response: 79% of patients, 58% with multiepitope responses	Kübler, H. et al. <i>J. Clin. Oncol.</i> <b>29</b> suppl., Abstr 4535 (2011).
<b>乳がん</b>						
Peptide: nelipepimut-S (E75), NeuVax™	HER2	GM-CSF	High-risk breast cancer, in remission after standard treatment	182	<b>臨床効果</b> 2-yr DFS: Overall: 94.3% vs. 86.8% (P=0.08) Low HER2-expressing tumours: 94.0% vs. 79.4% (P=0.04) High HER2-expressing tumours: 90.3% vs. 83.3% (P=0.44)	Mittendorf, E. A. et al. <i>Cancer.</i> <b>118</b> , 2594-2602 (2012). NCT01479244

Peptide:					<b>臨床効果</b>	
GP2	HER2	GM-CSF	High-risk breast cancer, in remission after standard treatment	172	Recurrence rate: 4.3% vs. 11.6% (P=0.41)	Trappey, F. et al. <i>J. Clin. Oncol.</i> <b>31</b> , Abstr 3005 (2013).
					<b>免疫応答</b>	
					DTH: 21.5 vs. 6.0 mm (P<0.01)	

### 肺がん

Peptide:					<b>臨床効果</b>	
CIMAvax EGF					OS:	
					Overall (vaccine vs. control): 6.5 mo vs. 5.3 mo (P=0.098)	Neninger Vinageras E. et al. <i>J Clin Oncol.</i> <b>26</b> , 1452-1458 (2008).
	EGFR	Montanide ISA51 + CYC	Stage IIIB/IV NSCLC, after chemotherapy	80	Good vs. poor immune responders: 11.7 mo vs. 3.6 mo (P=0.002)	NCT01444118
					Good immune responders vs. control: 11.7 mo vs. 5.3 mo (P=0.0024)	
					<b>免疫応答</b>	
					Good antibody response in 51% of patients	

Peptide:					<b>臨床効果</b>	
GV1001					OS: 28.8 mo	
					PFS:	
	Telomerase	GM-CSF	Unresectable stage III NSCLC; after chemoradiotherapy	23	Overall: 11.7 mo;	Brunsvig, P. F. et al. <i>Clin. Cancer Res.</i> <b>17</b> , 6847-6857 (2011).
					Immune responders vs. non-responders: 12.2 mo vs. 6.0 mo (P=0.20)	NCT01579188
					<b>免疫応答</b>	
					T cell response: 16/23 patients (69.6%)	

Viral vector (vaccinia):					<b>臨床効果</b>	
TG4010					6-mo PFS: 43.2% vs. 35.1% (P=0.307)	
					OS: 10.7 mo vs. 10.3 mo (P=0.59)	Quoix, E. et al. <i>Lancet Oncol.</i> <b>12</b> , 1125-1133 (2011).
	MUC1	Vector + IL-2	Stage IV NSCLC, with chemotherapy	148	TTP: 5.9 mo vs. 5.2 mo (P=0.070)	NCT01383148
					ORR: 41.9% vs. 28.4% (P=0.082)	
					Outcomes worse than control in subset of patients with high levels of activated natural killer cells.	

**免疫応答**

No significant differences between study arms in cellular responses to MUC1

Allogeneic tumour cell:					<b>臨床効果</b>	Nemunaitis, J. et al. <i>J. Clin. Oncol.</i> <b>24</b> , 4721-4730 (2006). NCT00676507
belagenpumatucel-L, Lucanix™	Tumour cell	Anti-TGF-β	Stage II–IV NSCLC; after front-line chemotherapy	75	OS: 14.4 mo; longer survival with higher (19.1 mo) vs. low (8.3 mo); P=0.0186) dose immunization	
Allogeneic tumour cell:					<b>臨床効果</b>	Morris, J. C. et al. <i>J. Clin. Oncol.</i> <b>30</b> suppl, Abstr 2571 (2012). NCT01774578
tergenpumatucel-L, HyperAcute® Lung	Tumour cell	αGT	Stage IIIB/IV NSCLC; progressive or relapsed after chemotherapy	28	OS: Overall: 11.3 mo IFN <sub>γ</sub> responders vs. non-responders: 21.9 mo vs. 5.5 mo (P<0.001)	
					<b>免疫応答</b>	Increased IFN <sub>γ</sub> responses in 61% of patients
Anti-idiotype: racotumomab	Idiotype	Alum	Stage IIIB/IV NSCLC; after primary treatment	176	<b>臨床効果</b> OS: 8.3 mo vs. 6.3 mo (P=0.02)	Macías, A. et al. <i>Ann. Oncol.</i> <b>23</b> suppl 9, Abstr 1238PD (2012). NCT014604722

**メラノーマ**

					<b>臨床効果</b>	Becker, J. C. et al. <i>Cancer Immunol. Immunother.</i> <b>61</b> , 2091-2103 (2012).
Peptide	survivin	Montanide ISA51 + CYC	Metastatic, treatment-refractory stage IV melanoma	61	OS: Overall: 9.1 mo Immune responders vs. non-responders: 19.6 mo vs. 8.6 mo; P=0.0077) PFS: Overall: 2.8 mo	
					<b>免疫応答</b>	T cell responses in 13/41 (32%) patients
Peptide	gp100 + MART-1 + tyrosinase	GM-CSF + Montanide ISA51	Metastatic melanoma	22	<b>臨床効果</b> OS: 13.4 mo PFS: 1.9 mo	Tarhini, A. A. et al. <i>J. Immunother.</i> <b>35</b> , 359-366 (2012).

**Immunologic**

T cell responses in 9/20 (45%) patients

---

Dendritic cell	gp100 + MAGE-A1, A2, A3 + MART-1 + tyrosinase	KLH	Metastatic melanoma	24	<b>临床效果</b> OS: Overall: 13.6 mo (vs. 7.3 mo matched controls) Immune responders vs. non-responders: 21.9 mo vs. 8.1 mo <b>免疫应答</b> T cell responses in 18/24 (75%) patients; multiepitope responses in 13/24 (54%) patients	Oshita, C. et al. <i>Oncol. Rep.</i> <b>28</b> , 1131-1138 (2012).
Dendritic cell	gp100 + tyrosinase (MHC-I/II)	KLH	Stage III/IV melanoma	33	<b>临床效果</b>	Aarntzen, E. H. et al. <i>Cancer Res.</i> <b>73</b> , 19-29 (2013).

---



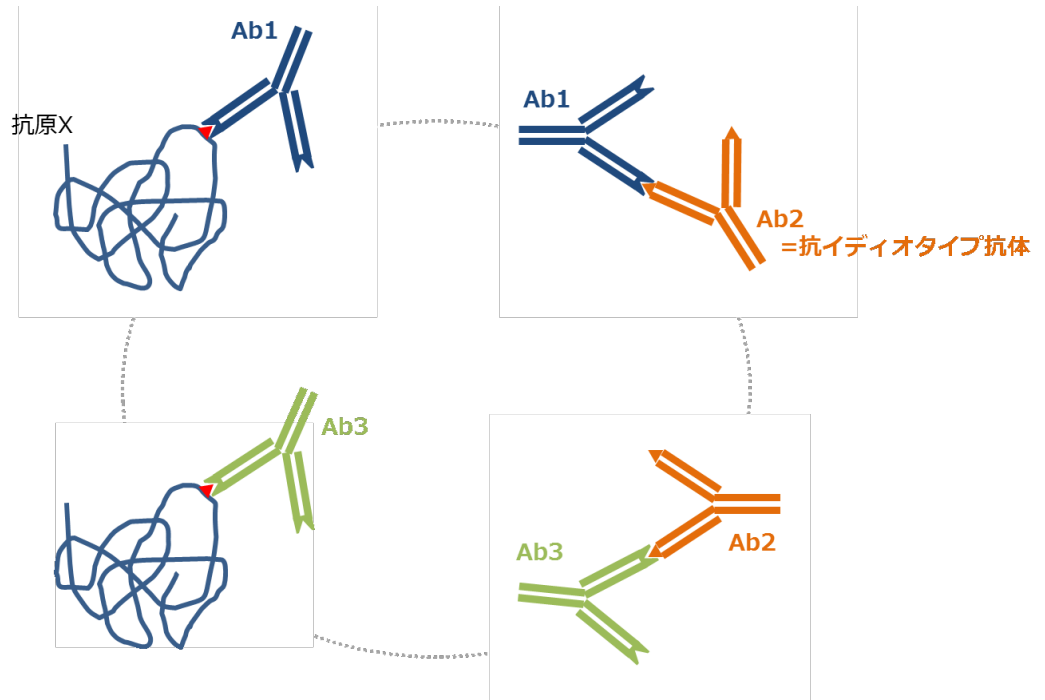


図1 イディオタイプネットワーク仮説

表4 臨床試験が実施された抗イディオタイプ抗体を有効成分とするがんワクチン

抗イディオタイプ抗体ワクチン	模倣する抗原	適応	臨床試験
Racotumomab(1E10)	NeuGcGM3	Breast Cancer NSCLC	Phase I Phase III (NCT01460472)
TriGem (4B5)	GD2	Melanoma	Phase I/II (NCT00004184)
MK2-23	HMW-MAA	Melanoma	Phase I/II
BR3E4	EpCam	Colorectal Cancer	Phase I
3H1 (CeaVac)	CEA	Colorectal Cancer	Phase III
105AD7	CD55	Colorectal Cancer	Phase I/II (NCT00007826)
11D10 (TriAb)	HMGF	Colorectal Cancer	Phase II (NCT00033748) *3H1との併用
Abagovomab	CA-125	Ovarian Cancer	Phase II/III (NCT00418574)

Ladjemi MZ. *Front Oncol.* 2:158 (2012). <https://clinicaltrials.gov> を参考に作成

