

Title	悪性脳腫瘍新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法の有効性予測因子の解明
Sub Title	Biomarkers for evaluation of clinical activity of VEGFR-targeted vaccines against malignant brain tumor patients
Author	植田, 良(Ueda, Ryō) 戸田, 正博(Toda, Masahiro)
Publisher	
Publication year	2021
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2020. )
JaLC DOI	
Abstract	<p>本研究では、申請者らが実施している悪性脳腫瘍（悪性神経膠腫）、治療抵抗性の神経鞘腫等の新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法臨床試験被験者検体を用いて、免疫応答関連細胞・因子、また脳腫瘍血管新生および浸潤性関連因子について解析し、臨床の有効性との関連性を検証した。その結果、同ワクチン療法による臨床の有効性を認めた患者検体では、ワクチン療法後にVEGFR発現細胞反応性細胞傷害性T細胞の高頻度検出、血漿中のIL-8値の低下、腫瘍細胞におけるVEGFR高発現を認めており、これらの因子は、同ワクチン療法の治療効果評価や治療反応性予測に応用しうると考えられた。</p> <p>Evaluation of immunological biomarkers may lead to better understanding of the critical immune response indicators that may help to predict clinical responses of cancer immunotherapy. We characterized status of immune cells, cytokines, chemokines, and other immunosuppressive molecules in refractory brain tumor patients who received vaccinations of VEGF receptor (VEGFR)-derived peptides. Peripheral blood samples from patients who demonstrated positive radiologic response or stable disease revealed superior VEGFR-specific CTL reactivity compared to samples from other patients with refractory brain tumors. Plasma IL-8 level was negatively correlated with overall survival. Furthermore, expression of VEGFR1 and VEGFR2 on tumor cells and immunosuppressive tumor-microenvironment were related to the therapeutic efficacy VEGFR-targeted vaccines. These data indicate that these parameters may be potential immune-biomarkers for evaluation of clinical activity of VEGFR-targeted vaccines.</p>
Notes	研究種目：基盤研究 (C) (一般) 研究期間：2018～2020 課題番号：18K08951 研究分野：脳神経外科学
Genre	Research Paper
URL	<a href="https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_18K08951seika">https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_18K08951seika</a>

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the Keio Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

令和 3 年 6 月 1 日現在

機関番号：32612

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K08951

研究課題名(和文) 悪性脳腫瘍新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法の有効性予測因子の解明

研究課題名(英文) Biomarkers for evaluation of clinical activity of VEGFR-targeted vaccines against malignant brain tumor patients

研究代表者

植田 良 (UEDA, Ryo)

慶應義塾大学・医学部(信濃町)・講師

研究者番号：30317143

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、申請者らが実施している悪性脳腫瘍(悪性神経膠腫)、治療抵抗性の神経鞘腫等の新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法臨床試験被験者検体を用いて、免疫応答関連細胞・因子、また脳腫瘍血管新生および浸潤性関連因子について解析し、臨床的有効性との関連性を検証した。その結果、同ワクチン療法による臨床的有効性を認めた患者検体では、ワクチン療法後にVEGFR発現細胞反応性細胞傷害性T細胞の高頻度検出、血漿中のIL-8値の低下、腫瘍細胞におけるVEGFR高発現を認めており、これらの因子は、同ワクチン療法の治療効果評価や治療反応性予測に応用しうると考えられた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脳腫瘍血管新生抑制療法とがんワクチン免疫療法という2つの治療要素を併せ持つ悪性脳腫瘍に対する治療はこれまでに行われておらず、本研究により、脳腫瘍微小環境の免疫学的解析や脳腫瘍患者での免疫応答、脳腫瘍血管新生機構の解明など、これまでのがん治療の臨床試験では検証されていなかった知見を、がん免疫療法や腫瘍血管新生抑制療法の改良・開発に向けた基礎研究にフィードバックし得る。また、基礎研究では判明しなかった現象が臨床試験において初めて明らかにされることもある。これらの情報は、今後の免疫的治療法・血管新生抑制療法開発にとって欠かすことができない重要な指針となり、がん医療の発展に寄与する可能性がある。

研究成果の概要(英文)：Evaluation of immunological biomarkers may lead to better understanding of the critical immune response indicators that may help to predict clinical responses of cancer immunotherapy. We characterized status of immune cells, cytokines, chemokines, and other immunosuppressive molecules in refractory brain tumor patients who received vaccinations of VEGF receptor (VEGFR)-derived peptides. Peripheral blood samples from patients who demonstrated positive radiologic response or stable disease revealed superior VEGFR-specific CTL reactivity compared to samples from other patients with refractory brain tumors. Plasma IL-8 level was negatively correlated with overall survival. Furthermore, expression of VEGFR1 and VEGFR2 on tumor cells and immunosuppressive tumor-microenvironment were related to the therapeutic efficacy VEGFR-targeted vaccines. These data indicate that these parameters may be potential immune-biomarkers for evaluation of clinical activity of VEGFR-targeted vaccines.

研究分野：脳神経外科学

キーワード：悪性脳腫瘍 腫瘍抗原ペプチドワクチン 脳腫瘍血管新生 免疫療法 バイオマーカー

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

悪性神経膠腫をはじめとした悪性脳腫瘍に対して集学的治療が行われるものの、依然として難治性であり、治療成績改善のためには新たな治療法・より強力な集学的治療法の開発が不可欠と考えられる。そこで申請者らは、特に悪性神経膠腫に対する免疫療法の開発を目指し、腫瘍抗原の同定、および免疫療法のさらなる改良に向けて、特にがん細胞による免疫抑制・抵抗性の分子機構の解明と克服法の開発の研究を行ってきた。さらに、これまでに脳腫瘍幹細胞の維持に必要な微小環境(脳腫瘍幹細胞ニッチ)の構築において重要な腫瘍新生血管に高発現する Vascular Endothelial Growth Factor Receptor1 (VEGFR1)と VEGFR2 ペプチドを用いたワクチン療法の臨床試験(「進行あるいは再発神経膠芽腫に対する腫瘍新生血管関連遺伝子 VEGFR1 および VEGFR2 ペプチドを用いたがんワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」UMIN 臨床試験登録番号:UMIN000005545、 「進行あるいは再発悪性神経膠腫に対するがんペプチドカクテルワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」UMIN 臨床試験登録番号:UMIN000012774、 「初発悪性神経膠腫に対するがんペプチドワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」UMIN 臨床試験登録番号:UMIN000013381、 「進行性神経鞘腫を有する神経線維腫症 2 型に対する腫瘍新生血管因子ワクチン療法の臨床試験」UMIN 臨床試験登録番号:UMIN000023565、 、 は終了、 、 は実施中)を実施している。

申請者が実施しているがんペプチドワクチン療法のみならず、近年実施、評価されたがん免疫療法は、全ての症例に有効ではない。しかし一方で、明らかな臨床的有効性が示される症例も得られている。このことから、免疫療法が難治性腫瘍の治療成績向上に寄与するためのひとつの方法として、治療有効性を予測し得るバイオマーカーを探索、がん免疫病態の個体差を解明し、治療反応性予測を可能にして適切な患者選択を行うことが有用なアプローチであると考えられる。そのためのがん免疫療法臨床試験被験者の免疫動態評価には、これまでの T 細胞誘導などの「正」の能動性免疫解析のみならず、がん細胞が直接産生する多様な免疫抑制分子(TGF- $\beta$  などの分泌型抑制分子、PD-L1 などの細胞膜型分子、IDO などの細胞内分子など)や、がん細胞が誘導する多様な免疫抑制性細胞(制御性 T 細胞、骨髄系抑制細胞、制御性樹状細胞など)等による免疫抑制状態、すなわち「負」の免疫動態を把握することが重要である。申請者らによる、担がん生体で産生され、強力な免疫抑制作用をもつ TGF- $\beta$  や、癌細胞が高発現する microRNA を介した腫瘍免疫抵抗性機構解明の研究成果、さらに申請者らが実施する複数のペプチドワクチン療法臨床試験で得られる正・負の免疫動態に関する情報とそれに対応する臨床情報は、本研究を遂行するにあたって十分に活用できると考えている。

ごく最近、免疫抑制性 checkpoint 阻害剤 PD-1 抗体による様々ながんに対する著明な治療効果が明らかになるなど(Brahmer J et al, N Engl J Med, 2015)、担がん生体の免疫抑制状態の解除などの免疫制御法の改良により、がん免疫療法的大幅な治療効果増強の可能性があることが示された(Rosenberg et.al. Nat Med. 2004)。このことは、がんワクチンと免疫増強剤・抗がん剤・分子標的薬の併用療法、免疫抑制状態を改善した後の免疫療法の実施、異なる機序の免疫療法を組み合わせた治療など、「複合的免疫療法」の開発もまた、免疫療法の治療効果向上のために期待されるアプローチであることを示唆する。

### 2. 研究の目的

申請者らは 4 つの悪性脳腫瘍新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法を実施、または実施中である。本研究では、この 4 臨床試験の被験者検体を用いて、申請者らが施行したこれまでの基礎研究や他の研究で同定されている抗腫瘍免疫ネットワークにおける正と負の調節細胞・分子や腫瘍血管新生・浸潤性関連因子バイオマーカーについて解析し、同治療の臨床的有効性との関連性を評価した。この結果に基づいて、同がんワクチン免疫療法の治療有効性を予測し得る因子やがん免疫病態の個体差を解明し、同療法に対する反応性・抵抗性の新たな評価法を開発する。さらには、治療反応性予測を可能にして適切な患者選択を行うこと、新規改良法の提案を行うことで、同がんワクチン免疫療法治療成績の向上に貢献することを目指した。

### 3. 研究の方法

本研究では、研究代表者らが実施済みおよび実施中である悪性脳腫瘍新生血管を治療標的としたペプチドワクチン療法臨床試験(計 4 試験)において得られた被験者検体を用いて、脳腫瘍血管新生および浸潤性関連因子、また免疫応答関連細胞・因子について解析し、臨床的有効性との関連性を検証して、これらが本治療の効果判定因子として有用となる可能性を検討した。

具体的には、研究代表者所属機関で標準的治療が施され、試料および臨床情報提供に同意した神経膠腫患者の検体(腫瘍組織・血清・血漿・末梢血リンパ球、臨床情報)さらに上記臨床試験を受けた悪性脳腫瘍被験者検体を用いて、脳腫瘍血管新生および浸潤性関連因子(血清 VEGF、血清 sVEGFR1/2、血清 bFGF、血清 SDF1、血清 microRNA (miR-126, miR-222))および免疫応答関連細胞・因子(末梢血リンパ球中の VEGFR 反応性 T 細胞・FoxP3 陽性制御性 T 細胞、血清中

の、IL10 や TGF- $\beta$  などの免疫抑制性サイトカイン等)について解析する。脳腫瘍血管新生および浸潤性関連因子とされる VEGF、sVEGFR1/2、bFGF、SDF1 の血清での発現を ELISA 法により検出、し得ることを確認した。神経膠腫患者および健常人末梢血リンパ球中の腫瘍抗原反応性 T 細胞の頻度をフローサイトメトリー解析により評価、免疫促進性 (IFN- $\gamma$ 、IL2、IL12 等)・免疫抑制性 (TGF- $\beta$ 、IL10、IL6、IL13、IL4、MCP-1、VEGF、PGE2、arginase 等)分泌型分子の血清中レベル測定を Bio-PlexTM (Bio-Plex 社) ビーズアレイ法により施行する。

#### 4. 研究成果

(1) 研究代表者らが実施済みの「進行あるいは再発神経膠芽腫に対する腫瘍新生血管関連遺伝子 VEGFR1 および VEGFR2 ペプチドを用いたがんワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」、「進行あるいは再発悪性神経膠腫に対するがんペプチドカクテルワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」、および現在実施中の「初発悪性神経膠腫に対するがんペプチドワクチン療法の第 I/II 相臨床試験」、「進行性神経鞘腫を有する神経線維腫症 2 型に対する腫瘍新生血管因子ワクチン療法の臨床試験」の被験者の検体および臨床情報を収集した。

(2) 被験者検体を用いた脳腫瘍血管新生・浸潤性関連因子、および免疫応答関連細胞・因子についての解析の実施と、(2) 解析した脳腫瘍血管新生・浸潤性関連因子、および免疫応答関連細胞・因子の動態と、臨床的有効性との関連性の評価を行った。

- 被験者検体を用いて VEGFR 発現細胞反応性の細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を検出したところ、VEGFR ワクチン療法により、VEGFR 発現細胞反応性 CTL の頻度がワクチン回数に比例して被験者体内に誘導されることを明らかにした。
- 本ワクチン療法を施行する前と後に、その悪性脳腫瘍組織における VEGFR 発現を解析したところ、ワクチン療法施行後の患者脳腫瘍組織での VEGFR 発現の方が程度であった。この結果から、腫瘍細胞における VEGFR の発現程度は本ペプチドワクチン療法の有効性に関連している可能性が示唆された。
- 本ワクチン療法は重篤な有害事象なく悪性脳腫瘍患者数例において臨床効果を認めており、新規病変の発生を抑制する可能性が示唆されている。この臨床効果が得られた患者体内では、VEGFR 発現細胞反応性 CTL が高頻度に検出され、VEGFR ペプチドに対する免疫応答が臨床的有効性を予測する指標となる可能性が示された。さらに、血漿 IL-8 値は、それぞれ VEGFR ペプチドワクチン後に低下することが判明し、今後臨床的有効性との関連性を検討することで治療効果評価や治療反応性予測に応用しうると考えられた。

がんペプチドワクチン療法は、全く新しいアプローチによる新規治療としての期待から、国内外において様々ながん種を対象として臨床試験が展開されているが、他のがんに比べて脳腫瘍を対象とした抗原ペプチドワクチン療法の臨床試験はほとんど施行されていない。実際に、腫瘍血管新生抑制療法とがんワクチン免疫療法という 2 つの治療要素を併せ持つ悪性脳腫瘍に対する治療はこれまでに行われておらず、本研究により、脳腫瘍微小環境の免疫学的解析や脳腫瘍患者での免疫応答、脳腫瘍血管新生機構の解明など、これまでのがん治療の臨床試験では検証されていなかった知見を、がん免疫療法や腫瘍血管新生抑制療法の改良・開発に向けた基礎研究にフィードバックし得る。また、基礎研究では判明しなかった現象が、臨床試験において初めて明らかにされることもある。これらの情報は、今後の免疫的治療法・血管新生抑制療法開発にとって欠かすことができない重要な指針となり、がん医療の発展に寄与する可能性がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Tamura Ryota, Fujioka Masato, Morimoto Yukina, Ohara Kentaro, Kosugi Kenzo, Oishi Yumiko, Sato Mizuto, Ueda Ryo, Fujiwara Hirokazu, Noji Shinobu, Oishi Naoki, Ogawa Kaoru, Kawakami Yutaka, Ohira Takayuki, Yoshida Kazunari, Toda Masahiro.	4. 巻 10
2. 論文標題 A VEGF receptor vaccine demonstrates preliminary efficacy in neurofibromatosis type 2.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 5758-5768
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-019-13640-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Morimoto Yukina, Tamura Ryota, Ohara Kenta, Kosugi Kenzo, Oishi Yumiko, Kuranari Yuki, Yoshida Kazunari, Toda Masahiro.	4. 巻 144
2. 論文標題 Prognostic significance of VEGF receptors expression on the tumor cells in skull base chordoma.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Neurooncology	6. 最初と最後の頁 65-77
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s11060-019-03221-z	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kikuchi Ryogo, Ueda Ryo, Saito Katsuya, Shibao Shunsuke, Nagashima Hideaki, Tamura Ryota, Morimoto Yukina, Sasaki Hikaru, Noji Shinobu, Kawakami Yutaka, Yoshida Kazunari, Toda Masahiro	4. 巻 8
2. 論文標題 A Pilot Study of Vaccine Therapy with Multiple Glioma Oncoantigen/Glioma Angiogenesis-Associated Antigen Peptides for Patients with Recurrent/Progressive High-Grade Glioma	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Clinical Medicine	6. 最初と最後の頁 263-263
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/jcm8020263	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tamura Ryota, Morimoto Yukina, Kosugi Kenzo, Sato Mizuto, Oishi Yumiko, Ueda Ryo, Kikuchi Ryogo, Nagashima Hideaki, Hikichi Tetsuro, Noji Shinobu, Kawakami Yutaka, Sasaki Hikaru, Yoshida Kazunari, Toda Masahiro	4. 巻 20
2. 論文標題 Clinical and histopathological analyses of VEGF receptors peptide vaccine in patients with primary glioblastoma - a case series	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 196-196
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-020-6589-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 戸田正博、田村亮太、大平貴之、吉田一成、藤岡正人、大石直樹、小川 郁
2. 発表標題 神経線維腫症2型に対するVEGFRワクチンの臨床試験と今後の展望について
3. 学会等名 第27回日本聴神経腫瘍研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸田正博
2. 発表標題 脳腫瘍に対するワクチン療法の開発
3. 学会等名 日本脳神経外科学会 第77回学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 森本佑紀奈、戸田正博、田村亮太、谷口智恵、河上 裕、吉田一成
2. 発表標題 第36回日本脳腫瘍学会学術集会
3. 学会等名 悪性神経膠腫に対するVEGFR 2 ワクチンと抗PD-1抗体併用療法の有効性の検討
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸田正博、田村亮太、森本佑紀奈、小杉健三、大平貴之、吉田一成
2. 発表標題 神経線維腫症2型に対するVEGF receptor ペプチドワクチンの臨床試験
3. 学会等名 第36回日本脳腫瘍学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 戸田正博
2. 発表標題 脳腫瘍に対するワクチン療法
3. 学会等名 第14回信濃町脳腫瘍セミナー
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	戸田 正博  (TODA Masahiro)	慶應義塾大学・医学部 脳神経外科・教授  (32612)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------