

日本医療研究開発機構 医療分野研究成果展開事業
産学連携医療イノベーション創出プログラム セットアップスキーム (ACT-MS)
事後評価報告書

公開

I 基本情報

研究開発課題名: (日本語) 家族性大腸腺腫症に対するワクチン治療開発
(英語) New therapeutic strategy with vaccine for familial
adenomatous polyposis

研究開発実施期間: 2018年9月14日~2020年3月31日

研究開発代表者 氏名: (日本語) 西山 成
(英語) NISHIYAMA, Akira

研究開発代表者 所属機関・部署・役職:
(日本語) 香川大学・医学部薬理学・教授
(英語) Professor, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Kagawa University

II 研究開発の概要

研究の目的:

本研究の最終目標は、家族性大腸腺腫症の原因である APC 遺伝子変異による Wnt/ β カテニン系の活性化に関与する生体因子 X を治療標的とし、我々の開発している新規液性免疫主導のペプチドワクチン(抗体誘導ペプチド)実用化のプラットフォーム技術の確立、ならびに実用化である。その最終目標に対し、本 ACT-MS による探索研究の期間においては、1. 家族性大腸腺腫症のマウスモデルでの上記新規治療ワクチンの薬効評価による用法・用量の決定、2. 抗体価測定法の標準化および抗体機能測定法の開発を行い、評価系を確立、3. 次相 (ACT-M、あるいは橋渡し研究推進プログラムシーズ B など) で進める治験薬 GMP 体制を念頭においた治療ワクチンの原薬・製剤の製造での課題抽出、4. 前臨床試験・臨床試験の準備: 次相で開始する「サルを用いた前臨床試験」、ならびに「早期探索的臨床試験」のプロトコールを作成、を実施することを本研究の目的とした。

成果の概要:

薬効試験として、正常 C57BL/6J マウスに対して現有する 4 種類の生体因子 X に対するワクチンを投与し、血中抗体価を測定することにより、抗体価が最も上昇する 2 つのワクチンを抽出した。そして、効率よく抗体価を上昇させることができる投与回数・期間などを検討し、最適化を図った。同時にワクチンが食欲不振、

体重減少、下痢、脱毛、電解質異常、行動異常、循環動態の異常などの副作用を生じていないかについて検討した。その結果、観察期間中、食欲不振、体重減少、下痢、脱毛など、いずれもアジュバンド投与群と2種類のワクチン投与群とで差が認められなかった。また、85-90週齢時に麻酔下に主要臓器を摘出し、副作用などの検証を実施したが、電解質異常や臓器の重量や組織学的異常などに有意な変化を生じていないことが確認できた。特に、Wnt/ β カテニン系阻害薬によって生じる骨病変は見られなかった。

これらの条件において、家族性大腸腺腫モデルマウスを用い、大腸ポリポーシスに対する薬効試験を実施した。本実験に際しては、家族性大腸腺腫モデル(C57BL/6J-ApcminIJ)マウスをジャクソン社より購入し、PCR法によるジェノタイピングの手法を確立し、薬効評価を実施するマウス数を確保した。また、本マウスにおける大腸ポリポーシス組織診断・評価法を確立した。その結果、20週齢時に腸腺腫の評価と副作用の検証を実施したところ、腸腺腫の増殖が有意に抑制されることが実証された。同様の実験を重ねたところ、アジュバンド投与群と比較して、2種類のワクチン(#2と#3)投与群では、サイズが大きくなればなるほど、発症を抑制することが示された。すなわち、ワクチンの投与により、サイズの中程度(1.1~2.0mm)から、大きい(2.1mm以上)大腸腺腫の数が減少していることが明らかとなった。合わせて、同マウスにおける副作用の評価も実施したが、腸腺腫より生じる出血による貧血や全身状態悪化に伴う体重減少が、むしろ2種類のワクチン投与によって抑制された。また、ワクチン投与は生存率を向上する傾向を示した。一方、同マウスにおける主要臓器の副作用の評価も実施したが、有意な変化は認められなかった。

抗体価測定法の確立として、マウス実験で得られた血清サンプルを用いた抗体価の測定による薬効評価を行った。また、抗体価測定法の標準化(用いる試薬の標準化、再現性の検討)を実施した。さらに、誘導抗体の活性評価系の探索として、薬効評価試験でワクチンによって誘導された抗体の評価として、Wnt/ β カテニン系の抑制を定量する実験系を確立した。具体的には、ルシフェラーゼ遺伝子を用いてWnt/ β カテニン系の活性をモニタリングする培養細胞系を確立した。この細胞にWnt蛋白を添加すると細胞質内の β カテニンが活性化し核に移行し、TCF/LEF転写因子に結合するが、このTCF/LEF応答配列の制御下にルシフェラーゼ遺伝子を組み込むことによりルシフェラーゼ遺伝子の転写が誘導される系を確立した。

その結果、ワクチンによって産生される抗体は、実際に β カテニン活性を抑制していることが、上記in vitroの評価系によって示された。さらに、マウスにおける抗体価測定法の標準化(用いる試薬の標準化、再現性の検討)の確立、ならびに最適ワクチンの選択、用法・用量を決定することができた。しかし、製剤として安定して大量製造を行うことができる、より治験薬GMP製造に適したワクチンへ移行しようとしたが、予想外に抗体価の上昇が低い結果となり、前臨床試験で使用するワクチンを確立することができなかった。これについては、今後、製剤化については引き続き検討し、抗体価を上昇させることができるワクチンの最適化を実施する。

家族性大腸腺腫症の臨床研究についての実態調査として、家族性大腸腺腫症の現状、ならびにこれに対して実施中の臨床研究を調査した。特に、日本家族性大腸腺腫症研究会、班長を務める厚生労働省消化管ポリポーシス難病班、事務局を務める日本消化器病学会関連研究会「消化管ポリポーシス研究会」を通じて情報を収集した。また、前臨床試験の準備として、PMDAと試作ワクチンによる途中解析のデータを示し、今後の前臨床試験に向けた研究の進め方について方向修正が必要かなどについてRS総合面談を実施し、参考となるガイドラインなどについての指導を受けた。一方、将来実施される臨床試験については、臨床試験骨子の立案に加え、実施計画書(案)を作成する予定であったが、マウスの実験において、実薬とする予定であったワクチンによる抗体価上昇が弱かったため、PMDAへの事前面談のステップに進むことができなかった。そのため、現段階では将来実施する臨床研究の予測の段階に留まった。同様の理由で、サルでの予備試験も実施できなかった。

意義や今後への課題：

試作した生体因子 X に対するワクチンは、家族性大腸腺腫モデルマウスにおいて十分な抗体価上昇を示し、副作用なく著名な効果を示すことが実証された。したがって、内科的な治療法の全くない家族性大腸腺腫症に対し、新しい治療ターゲットを対象とした探索研究としては大きな成果を得ることができたと考えられる。ところが、治験薬 GMP 製造に適したキャリアに変更したところ、抗体上昇効果が弱まるという予想しなかったトラブルが発生したため、前倒しで計画した前臨床試験に向けた PMDA 相談やサルの前臨床予備実験などを完了することができなかった。

以上、ACT-MS で求められる探索研究のフェーズは問題なく完了したものの、前倒しで計画した前臨床や臨床研究の準備を完了することができなかった。現在、次相に向けてワクチンの最適化を進めている。

English:

The goal of this study is to establish a platform technology for the practical application of our novel liquid immunity-driven peptide vaccine (antibody-inducing peptide), which targets biofactor X involved in the activation of the Wnt/ β -catenin system by APC gene mutation, which is the cause of familial adenomatous polyposis (FAP). During this ACT-MS exploratory study, we aimed to 1) evaluate the efficacy of the above novel therapeutic vaccine in a mouse model of FAPs to determine the dosage and administration, 2) standardize antibody titer assay and develop antibody function assay, and establish an evaluation system, 3) identify issues in the manufacturing of APIs and preparations for therapeutic vaccines with a view to the GMP system for investigational vaccines being promoted; 4) develop protocols for preclinical trials in monkeys and early exploratory clinical trials to be initiated in the next phase.

To test the efficacy of these vaccines, 4 vaccines normal were administered to both C57BL/6J mice, and their antibody titers were measured. We also standardized the method of antibody titer determination (standardization of reagents and reproducibility of the method). In addition, we established an experimental system to monitor the activity of Wnt/ β -catenin system using luciferase gene in culture cells. Furthermore, we examined the effects of vaccines on polyposis in a mouse model of FAP (C57BL/6J-ApcminIJ). A series of similar experiments showed that, compared to the adjuvant group, 2 vaccines (#2 and #3) increased antibody and attenuated the development of intestine polyps. We also found that anemia due to hemorrhage caused by intestinal adenomas and weight loss due to deterioration of the systemic condition were improved by 2 vaccines. Furthermore, we found no significant changes, and administration of the vaccine also tended to improve survival. In preparation for the preclinical trials, we presented the data from the analysis of the vaccine prototypes to the PMDA and received guidance on the guidelines for reference, and we surveyed the current status of FAP.

We attempted to shift to a vaccine more suitable for GMP manufacturing of investigational drugs, which is capable of stable mass production of the vaccine as a formulation. However, the increase in antibody titer was unexpectedly low, and we were unable to establish a vaccine for use in preclinical studies. In this regard, we will continue to study the formulation of the vaccine and optimize the vaccine that can increase antibody titers.

In summary, the prototype vaccine against biofactor X was demonstrated to be prominent and effective in a mouse model of FAP, with a sufficient increase in antibody titers without side effects. Thus, this is a significant achievement for an exploratory study targeting a new therapeutic target for familial adenomatous colorectal adenomatosis, for which there is no medical treatment at all. However, we were unable to complete the PMDA consultation and preliminary monkey experiments for the preclinical study planned ahead of schedule because of the unexpected trouble of weakening the effect of antibody elevation when we changed to a carrier suitable for GMP production of the investigational drug. We are currently working on optimizing the vaccine for the next phase of the study.

III 事後評価総合所見

生体因子 X による Wnt 活性化機構に関する、課題リーダーらの発見に基づいて、家族性大腸腺腫に対するペプチドワクチンの開発を目指すもので、アイデアの独自性や、モダリティの新規性、実際のワクチン投与により Wnt 活性の干渉やモデルマウスでのポリープのサイズや数の抑制が示された点は高く評価されました。臨床試験まで見据えた計画も示されています。

今後は、キャリアタンパク質の最適化を進めて計画の残りのマイルストーンを達成すること、また、永続的効果が期待できる反面、副作用も長期化する懸念があることから安全性に関しては入念に評価することが必要と考えます。さらに、メカニズムについても生体因子 X による評価も交えて、更なる検討を加えることを期待します。