

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2008～2010

課題番号：20590806

研究課題名(和文)

切除不能局所進行性膵癌に対する免疫細胞療法の有効性と安全性の評価検討(第2相)

研究課題名(英文)

Evaluation of effectiveness and safety of immune cell therapy for the unresectable locally advanced pancreatic cancer (Phase 2 trial)

研究代表者

廣岡 芳樹 (HIROOKA YOSHIKI)

名古屋大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号：50324413

研究成果の概要(和文)：切除不能局所進行膵癌に対し、超音波内視鏡下に腫瘍内に未熟樹状細胞を局所注入し、腫瘍抗原を感作し成熟した樹状細胞が周囲免疫組織に腫瘍特異的な情報を提供する。腫瘍特異的な殺傷能力を有する T リンパ球が膵癌細胞に作用することで膵癌治療に寄与することが人で初めて証明された。

研究成果の概要(英文)：For the unresectable locally advanced pancreatic cancer, immune cell therapy was conducted. Immature dendritic cells were directly injected the target tumor using endoscopic ultrasonography guidance. Immature dendritic cell sensitized by tumor lysate grew up to the mature dendritic cell with tumor specific immunity and demonstrated tumor specific immunotoxicity to the human pancreatic cancer for the first time.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	2,400,000	720,000	3,120,000
2009年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,800,000	1,140,000	4,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・消化器内科学

キーワード：免疫細胞療法・切除不能局所進行膵癌・樹状細胞局注

1. 研究開始当初の背景

患者本人の免疫細胞の働きを人為的に高めることにより、がんを抑制しようとする治療法が免疫細胞療法である。生体が本来持っている防御機構である免疫系を治療の中で活かすことを主旨とする。免疫療法は一般に癌の一次治療として用いられることはなく、その効果の評価は前治療に修飾されている部分が多く困難なことが多かった。それゆえ、膵癌に対する一次治療としての安全性や効果については全く不明である。免疫細胞療法

の内の一療法である自己樹状細胞療法は、患者の末梢血から採取した単球を T 細胞に対して効率的に抗原を提示する抗原提示細胞である樹状細胞へと分化させ、再び体内へ戻し、癌細胞を攻撃する細胞障害性 T 細胞 (CTL) を誘導することにより、腫瘍細胞を攻撃しようとするものである。申請者らは切除不能局所進行膵癌患者を対象に、ゲムシタビンの静脈内投与に加え、CTL 誘導能を高めるアジュバント効果が確認されている OK432 を添加した未熟樹状細胞の腫瘍内局所投与、及び活

活性化自己リンパ球療法の静脈内投与の第1相試験を実施した。その結果、重篤な有害事象は認められず、5例中4例で1年以上の生存を認めるなど有効性を示唆する成績が得られた。超音波内視鏡ガイド下穿刺にて膵癌病巣内に直接注入された未熟樹状細胞は、癌巣内の癌細胞又は癌抗原を貪食・消化し、樹状細胞上のMHC分子に癌抗原が提示されることにより、癌抗原特異的細胞障害性T細胞を活性化、増殖し、腫瘍を攻撃、退縮させることが本治療の目的である。前述の如く、樹状細胞に患者癌細胞を十分にパルスし体内に戻す方法が一般的ではあるが、実際の臨床では切除不能であることが多い膵癌に関しては十分な癌細胞を入手すること自体が極めて困難である。未熟な段階の樹状細胞を腫瘍内に直接注入し（対象が膵臓であるため、穿刺注入には超音波内視鏡（後述）を使用）生体内で癌細胞に感作することを期待することになる。また、その際、腫瘍組織が多少でも損傷（壊死）することで未熟樹状細胞による貪食が効率よく行われるように抗癌剤（塩酸ジェムシタピン：GEM）を使用した。さらに、LAK (lymphokine activated killer)療法を併用することでより強い抗腫瘍免疫作用の発現を目指した。

2. 研究の目的

基礎研究においてゾレドロン酸を添加させた未熟樹状細胞は、MHC拘束性の抗腫瘍効果が期待されるCTL誘導能の向上、及びサイトカイン産生能の亢進といったアジュバント効果が確認されており、かつMHC非拘束的な抗腫瘍効果が期待できる $\gamma\delta$ T細胞を活性化させる傾向も認められている。

超音波内視鏡は内視鏡先端部に小型の超音波診断装置を有する内視鏡である。通常の内視鏡では消化管粘膜面のみの観察となるが、超音波内視鏡を用いれば消化管の壁内病変（粘膜下腫瘍など）の観察や消化管外の病変（膵臓病変、胆道病変、リンパ節など）の観察が可能である。膵臓は胃・十二指腸の背側に位置する。超音波内視鏡を用いれば消化管壁を通して膵臓が詳細に観察可能である。超音波内視鏡ガイド下穿刺生検は超音波内視鏡で膵臓病変を観察しながら細径の穿刺針（22G：2.8mm）で病変を穿刺し陰圧を加えながら組織を得る手技である。超音波内視鏡自体の安全性は通常の上部消化管内視鏡に準ずる。今回は、超音波内視鏡ガイド下に腫瘍を直接観察しながら穿刺し、吸引生検は行わず、上述の未熟樹状細胞を局注することになる。

第1相試験において安全性は十分確認されており、治療効果についても十分期待できると

考えている。申請者らは、今回の第2相試験で10例の症例を追加し、治療効果、安全性、免疫学的反応につき検討する予定である。また、第1相試験以上の切除可能症例を確保し、より詳細な免疫学的検討を行う予定である。具体的には、 $\gamma\delta$ -T細胞の活性化の検討や本治療法が有効であった症例と有効でなかった症例の比較検討も行いたいと考えている。

切除不能膵癌に対する免疫細胞療法が一次治療として検討されたのは世界的にみて初めてのことである。既に、第1相試験では本治療法による長期の無増悪期間を4例に認めたことから、既存の治療をはじめのまでに長期間の猶予を得たことになる。言い換えれば、少ない副作用で、増悪することもなく、患者の生命予後を既存治療法による生命予後に上乗せしたことになる。第2相試験では $\gamma\delta$ -T細胞による効果が期待でき、全体としての有効性はさらに高まる可能性がある。各症例の治療効果を十分に検討することで、免疫細胞療法を一次治療として選択すべき病態と他治療法を一次治療として選択すべき病態とを治療前に判定できれば、免疫細胞療法を含めた進行膵癌に対するテーラーメイド治療の選択肢が大きく広まるものと考えられる。

3. 研究の方法

第1相臨床試験での成果を踏まえ、先行した臨床試験で用いたOK432と比較しCTL誘導能が増強し、かつ $\gamma\delta$ -T細胞比率についても増加するゾレドロン酸を添加した未熟樹状細胞を用いることで、より有効な治療が期待できるものと考え、その有効性及び安全性を評価するため第2相試験を計画した。

試験の目的：切除不能局所進行膵癌に対する自己樹状細胞腫瘍内局注療法の有効性と安全性を評価する。主要目的：1) 全生存期間 (OS)。副次的目的：1) 生存率 (1年) 2) 無増悪期間 (TTP) 3) 原腫瘍縮小効果 4) 腫瘍マーカー値 5) QOL

対象患者：切除不能局所進行膵癌 10例

選択基準：(1) 組織診により膵癌と診断され、告知を受けた患者。(2) 同意取得時の年齢が20歳以上75歳以下である患者。(3) 測定可能病変を有する (CT又はMRI、超音波内視鏡等) 患者。(4) 他のがん腫に対する治療も含めて化学療法、放射線照射、いずれの既往もない患者。(5) 一般状態 (P.S.) が0~2である、もしくは担当医が本試験への組込みが臨床的に妥当と判断する患者。(6) 登録前4週間以内の検査において、下記の検査値を満たしている患者。①骨髄機能末梢血液像が非輸血依存であり (測定日の3日前以降輸血な

し)、血小板機能障害による重篤な出血傾向等がない患者。単球数：単球の比率が基準値を下回らないこと。② 肝機能・腎機能に重篤な障害を有さない。(7) 重篤な心アミロイドーシス、心不全がない患者。(8) コントロール困難な感染症(敗血症、肺炎等)がない患者。(9) 少なくとも3ヶ月以上の生存が予想される患者。(10) 本試験参加に対する同意が患者本人から文書にて得られている患者。

実施方法：選択基準に該当した患者に対し文書によるインフォームドコンセントを得た後、治療開始14日前にアフエレーシスを行い、得られた単球から未熟樹状細胞(imDC)を培養した。免疫細胞療法(imDC局注とLAK全身投与)実施3日前にGEMの投与を行った。GEMの投与(1000mg/m²:30分)は外来で施行し、imDC(5.0x10⁶/2ml)の超音波内視鏡ガイド下局注とLAK(6.0x10⁹/100ml:30分)の静脈内投与は安全性確認のため一泊入院にて施行した。GEM投与と免疫細胞療法6回を1クールとしPD(progressive disease)となるまで継続した。

4. 研究成果

第2相試験中間解析の結果を示す(現在10例中5例エントリー)。

1) 安全性：本治療法との因果関係が否定できない有害事象として、血液毒性ではGrade2の白血球減少を1例で、非血液毒性では、Grade2の悪心、便秘を1例認めたが、Grade3以上の有害事象は認めなかった。

2) 抗腫瘍効果：6ヶ月を越えるlong SD(SD:stable disease)を2例で認めている。5例4例が生存中である。

3) 免疫学的反応性の確認：long SDが得られた症例とPR症例で、CD3+、CD3+CD4+、CD3+CD8+T細胞が増加したが、統計学的な有意差は認めなかった。ELISA解析を行ったが、long SD症例では末梢血T細胞表面にINF- γ の増加を確認しえた。

以上の結果をふまえて、“切除不能局所進行膵癌患者に対する免疫細胞療法の個別化に関する検討”を行いたいと考えている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計5件)

① 廣岡芳樹、伊藤彰浩、川嶋啓揮、大野栄三郎、石川卓哉、松原浩、伊藤裕也、中村陽介、平松武、中村正直、宮原良二、大宮直木、石上雅敏、片野義明、金子亨、後藤重則、高原将司、後藤秀実。切除不能局所進行膵癌に対するゲムシタピンとEUS下樹状細胞局注療法の作用治療。胆と膵。31、2010、1245-1248、

査読無。

② Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Hara K, Nonogaki K, Kasugai T, Ohno E, Ishikawa T, Matsubara H, Ishigami M, Katano Y, Ohmiya N, Niwa Y, Yamamoto K, Kaneko T, Nieda M, Yokokawa K, Goto H. A combination therapy of gemcitabine with immunotherapy for patients with inoperable locally advanced pancreatic cancer. Pancreas. 38, 2009, 69-74. 査読有。

③ Hirooka Y, Itoh A, Kawashima H, Ohno E, Ishikawa T, Matsubara H, Itoh Y, Nakamura M, Miyahara R, Ohmiya N, Niwa Y, Ishigami M, Katano Y, Goto H. Diagnosis of pancreatic disorders using contrast-enhanced endoscopic ultrasonography and endoscopic elastography. Clin Gastroenterol Hepatol. 7, 2009, 62-67. 査読有。

④ 廣岡芳樹、伊藤彰浩、川嶋啓揮、大野栄三郎、石川卓哉、松原浩、伊藤裕也、中村陽介、宮原良二、大宮直木、(石上雅敏、片野義明、金子亨、後藤重則)、後藤秀実。切除不能局所進行膵癌に対するEUS下樹状細胞局注療法。胆と膵。30、2009、1257-1261。査読無。

[学会発表](計3件)

① 廣岡芳樹、切除不能局所進行膵癌に対するゲムシタピン併用EUSガイド下樹状細胞局注療法。第48回日本癌治療学会学術集会。2010年10月30日、京都国際会議場。

② 廣岡芳樹、造影超音波内視鏡の有用性について。第79回日本消化器内視鏡学会総会。2010年5月29日、京都国際会議場。

③ 廣岡芳樹、EUS-FNAを用いた切除不能局所進行膵癌に対する免疫細胞療法(第1相および第2相中間報告) 第96回日本消化器病学会総会 2010年4月22日、新潟県民会館。

[図書](計2件)

① Hirooka Y, Itoh A, Goto H. (New Diagnostic Technique of EUS Using Contrast-Enhanced Agents. “New Challenges in Gastrointestinal Endoscopy” Springer, 2009, 489-498.

② 廣岡芳樹、伊藤彰浩、川嶋啓揮、大野栄三郎、石川卓哉、松原浩、伊藤裕也、中村正直、宮原良二、大宮直木、丹羽康正、後藤秀実、原和生、金子亨、後藤重則。東京医学社。Advanced Therapeutic Endoscopy. EUS下穿刺術を応用した術状細胞局注療法。消化器内視鏡。21、2009、958-963。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣岡 芳樹 (HIROOKA YOSHIKI)

名古屋大学・医学部附属病院・准教授
研究者番号：50324413

(2) 研究分担者

後藤 秀実 (GOTO HIDE MI)
名古屋大学・医学系研究科・教授
研究者番号：10215501

伊藤 彰浩 (ITOH AKIHIRO)
名古屋大学・医学系研究科・講師
研究者番号：30362239

大宮 直木 (OHMIYA NAOKI)
名古屋大学・医学系研究科・講師
研究者番号：00335035

(3) 連携研究者 なし
()

研究者番号：