

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591809

研究課題名（和文）

転移性肺腫瘍に対する活性化自己 $\gamma\delta$ T 細胞による合併免疫療法の臨床的研究

研究課題名（英文）

Clinical study on adoptive immunotherapy with autologous gammadelta T-lymphocyte for patients with pulmonary metastasis from colorectal cancer.

研究代表者 中島 淳 (NAKAJIMA JUN)
東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号：90188954

研究成果の概要（和文）：

結腸・直腸癌の肺転移は手術切除によって根治の可能性があるが、術後再発率は高く、難治性である。肺転移完全切除例の術後に自己リンパ球（ $\gamma\delta$ T細胞分画）を採取、体外で培養活性化させ、抗癌作用を高めた後に自己の体内に戻す免疫療法を行った。本治療は安全に遂行することができた。ヒストリカルコントロール群と比較し、生存率・無再発生存率に有意差は無かった。

研究成果の概要（英文）：

Patients with pulmonary metastasis from colorectal cancer, which is an advanced form of the disease, can be cured by surgical resection. However, they are much likely to suffer from the recurrence. We performed a clinical trial of adoptive immunotherapy on the patients after curative resection of pulmonary metastasis from colorectal cancer; gamma-delta fraction of T-lymphocytes was retrieved from the patients, incubated / activated in vitro, and then returned to the same patients. This treatment was able to carried out safely. Compared with the historical control group, there was no significant difference in survival rate or recurrence-free survival.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,200,000 円	360,000 円	1,560,000 円
2010年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
2011年度	1,100,000 円	330,000 円	1,430,000 円
総計	3,400,000 円	1,020,000 円	4,420,000 円

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：転移性肺腫瘍・結腸直腸癌・術後合併療法・免疫療法・自己活性化リンパ球療法・ $\gamma\delta$ T細胞

(1) 研究開始当初の背景

転移性肺腫瘍は悪性腫瘍が血行性遠隔転移をきたしたものであり、予後不良である。

一般的には化学療法が行われるが、化学療法では治癒に至る例は希である。肺転移が切

除可能ならば長期生存が可能である。原発巣が治癒し、他臓器転移が無い・または切除可能ならば、肺転移切除の適応があるとされる。近年はCTやPETによる術後 follow-up によって手術可能な肺転移を早期に発見される

症例が増加している。しかし肺転移術後の5年生存率は40%程度（結腸・直腸癌肺転移切除例）程度であり、多くは腫瘍再発のため死亡する。手術治療後に化学療法など合併療法を加えても非再発生存率を向上させるというEBMは得られていない。外科治療が行われた患者に対して適切な補助療法を行い、再発率を低下させる方法が期待される。

自己活性化リンパ球による免疫療法は、自己のリンパ球を体外に取り出し、IL-2などのサイトカインによる刺激を加えた培養にて増殖・活性化させた後に自己の体内に戻して抗癌作用を期待するものである。

Tリンパ球には、 $\alpha\beta$ TCR または $\gamma\delta$ TCR をもったリンパ球が存在する。末梢血の大半を占める $\alpha\beta$ Tリンパ球が獲得免疫(acquired immunity)を担っているのに対して、 $\gamma\delta$ Tリンパ球は自然免疫(innate immunity)に属しており、結核などの特殊な細菌感染や腫瘍に対する免疫応答のエフェクター細胞として働いている。また、がん細胞に強く発現しているMICA, MICBに対して特異的に反応し、細胞障害活性をもつため、 $\gamma\delta$ Tリンパ球の持つ強い抗腫瘍活性を利用した免疫療法の開発が注目されている。

我々はこの $\gamma\delta$ T細胞治療を転移性肺腫瘍術後の合併療法として位置づけ、その抗腫瘍効果について検討した。

結腸・直腸癌の表面にはMICA、MICB抗原発現度が高く、これを認識し特異的に結合する $\gamma\delta$ T細胞を大量輸注すると抗腫瘍活性が期待できる。結腸直腸癌はかかる生物学的特性を有するとともに、転移性肺腫瘍手術の対象となる原発巣として最も頻度が高いため、本疾患を研究の対象とした。

主要評価項目は、本臨床研究が安全に遂行されることである。副次的な評価項目は、本臨床研究治療の有効性である。有効性の検証

方法として、術後 $\gamma\delta$ T細胞投与を行った患者群と、従来行われてきた結腸直腸癌肺転移手術例（免疫療法なし）のhistorical control群を比較し、予後（術後腫瘍再発までの期間ならびに生存期間）について検討を行った。

手術直後の腫瘍数が無ないし非常に少ない状態において $\gamma\delta$ T細胞が攻撃を加えること、また術後免疫力が低下している時期に $\gamma\delta$ T細胞による腫瘍免疫を賦活することにより、全身に広がる微小癌に対する抗腫瘍効果を期待することができ、再発率の低下をきたすことと考えた。

(2) 研究の方法

① 研究薬： 活性化自己 $\gamma\delta$ T細胞懸濁液

② 対象 結腸・直腸癌肺転移切除例

選択基準

- 1) 結腸・直腸癌肺転移の確定診断を受けた患者。
- 2) 肉眼的に完全切除が可能な症例
- 3) 同意取得時の年齢が20歳以上である患者。
- 4) 3ヶ月以上の生存が見込まれる患者
- 5) ECOG Performance Status (PS) が0または1の患者。
- 6) 外来通院が可能な患者。
- 7) 適格性確認時に主要臓器（心・肺・肝・腎・骨髄）の機能が十分に保持されている患者。
- 8) 参加にあたり十分な説明を受けた後、十分な理解の上、患者本人の自由意思による文書同意が得られた患者。
- 9) 培養に必要な細胞採取のための採血（アフエレーシス）実施が可能な患者。
- 10) 適格性確認の事前検査により、投与 $\gamma\delta$ T細胞数の十分な確保が可能と見込める患者。

③ 研究の種類・デザイン： 単群オープン臨

床研究

④研究のアウトライン：同意→適格性の確認→登録→細胞採取および治療用細胞培養→活性化自己 $\gamma\delta$ T細胞投与（1週間隔で8回）→後観察

⑤治験者の試験参加予定期間：約2年間
・治療前（同意説明～事前 $\gamma\delta$ T細胞検査～登録）：2～4週間

⑥治療期間（ $\gamma\delta$ T細胞8回投与）：10週間

⑦後観察期間（治療終了後～後観察終了）：22ヶ月間（図1参照）

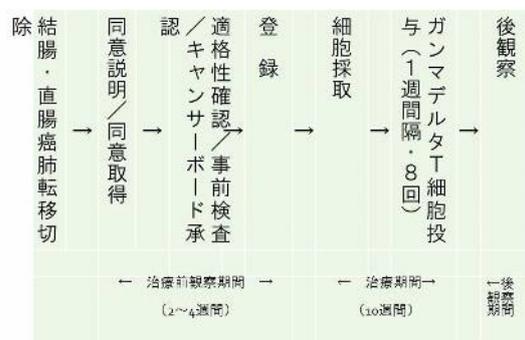


図1（上図） 研究計画

⑧評価項目

安全性：[主要評価項目] 有害事象の種類と程度、発現時期、発現頻度、発現期間、発現率など

有効性：[副次的評価項目] 再発率 無再発生存期間、全生存期間、生存率、腫瘍マーカー、免疫学的反応性

(3) 研究成果

登録された13例中、2例は $\gamma\delta$ Tの増殖が事前検査で不良であったため、除外した。また、1例は術後病理書式検査で肺転移が不完全切除であることが確認されたため、除外した。残りの10例について、自己 $\gamma\delta$ T体外培養活性化後投与を施行した。この10例について検討した。年齢分布は52

歳～80歳、性別は男性3名、女性7名であった。10例のうち、多発肺転移例が9例であった。施行例における培養前末梢血 $\gamma\delta$ T分画は0.8 - 3.9%（中央値1.45%）、培養後は64.0 - 97.6%（中央値91.7%）、増殖率1360～8256倍（中央値2264倍）であった。登録後観察期間252～1327日（中央値813日）。8例で $\gamma\delta$ を8回投与完遂した。2例は投与中結腸・直腸癌の再発が明らかとなり、中止した。 $\gamma\delta$ T投与から観察期間中特に有害事象は認められなかった。観察期間中、8例生存（生存期間252-1327日、1例523日原因不明死、1例1299日癌死）であった。当科で結腸・直腸癌肺転移切除例を行ったヒストリカルコントロールとの比較では、術後生存日数において有意差は認められなかった。

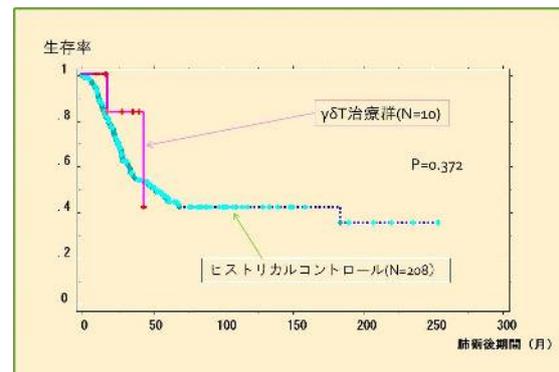


図2（上図） 転移性肺腫瘍切除例の術後生存率の比較： $\gamma\delta$ T細胞治療群（ピンク色実線、n=10）とヒストリカルコントロール（青色点線、n=208）

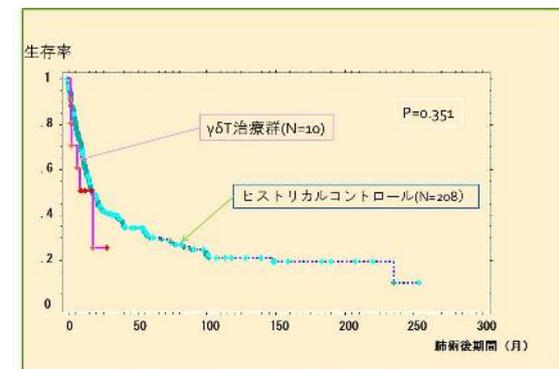


図3（上図） 転移性肺腫瘍切除例の術後無

再発生存率の比較： $\gamma\delta$ T細胞治療群（ピンク色実線,n=10）とヒストリカルコントロール(青色点線、n=208)

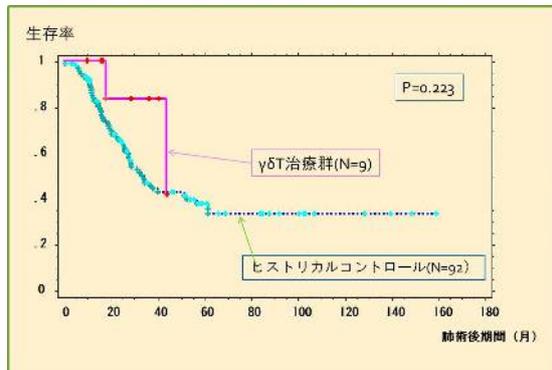


図 4（上図）転移性肺腫瘍切除例のうち、多発肺転移例における術後生存率の比較： $\gamma\delta$ T細胞治療群（ピンク色実線,n=9）とヒストリカルコントロール(青色点線、n=92)

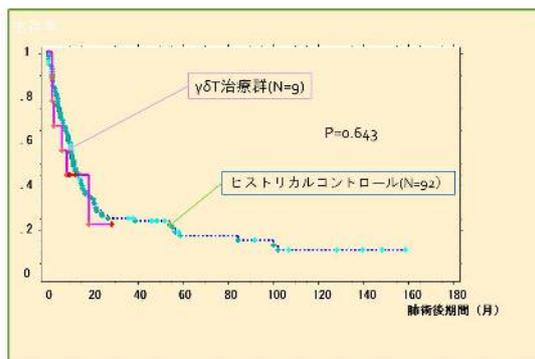


図 5（上図）転移性肺腫瘍切除例のうち、多発肺転移例における術後無再発生存率の比較： $\gamma\delta$ T細胞治療群（ピンク色実線,n=9）とヒストリカルコントロール(青色点線、n=92)

(4) 考察

大腸癌肺転移術後自己 $\gamma\delta$ T細胞療法は10例中8例でプロトコルを完遂し、問題となる有害事象は見られなかった。

肺転移術後生存率・無再発生存率についてはヒストリカルコントロールと有意差なし自己 $\gamma\delta$ T投与は術後補助免疫療法として安全に行えた。生命予後改善の効果につ

いてはさらに検討を要する。

- (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4件）

1. Yoshida Y, Nakajima J, Wada H, Kakimi K. $\gamma\delta$ T-cell immunotherapy for lung cancer. Surgery Today, 査読有、41 巻、2011, pp 606-611
2. Sakamoto M, Nakajima J, Murakawa T, Kakimi K. et al. Adoptive immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer using zoledronate-expanded $\gamma\delta$ T cells: a phase I clinical study. J Immunother 査読有、34 巻、2011, pp.202-211
3. Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, Goto S, Kaneko T, Yoshida Y, Takamoto S, Kakimi K. A phase I study of adoptive immunotherapy for recurrent non-small cell lung cancer patients with autologous $\gamma\delta$ T cells. A phase I study of adoptive immunotherapy for recurrent non-small cell lung cancer patients with autologous $\gamma\delta$ T cells. Eur J Cardio-Thorac Surg 査読有、37 巻、2010, pp. 1191-1197
4. Kakimi K, Nakajima J, Wada H. Active specific immunotherapy and cell-transfer therapy for the treatment of non-small cell lung cancer. Lung Cancer 査読有、65 巻、2009, pp 1-8

[学会発表]（計8件）

1. Nakajima J, Murakawa T, Nagayama K, Sano A, Yoshida Y, Kitano K, Matsuhsita H, Kakimi K. Postoperative adjuvant immunotherapy with autologous $\gamma\delta$ T- lymphocytes for patients suffering from

- pulmonary metastasis of colo- rectal cancer. Asian Society for Cardiovascular & Thoracic Surgery, annual meeting 2012 (2012 年 3 月 9 日 Bali, Indonesia)
2. 中島 淳, 村川知弘, 長山和弘, 佐野厚, 吉田幸弘, 北野健太郎, 井上雄太, 此枝千尋, 松下博和, 垣見和宏 結腸・直腸癌肺転移に対する自己 $\gamma \delta T$ 細胞による術後補助免疫療法。第 52 回日本肺癌学会総会 2011 年 11 月 3 日 大阪市
 3. 中島 淳 非小細胞肺癌に対する $\gamma \delta T$ 細胞療法の臨床研究。第 51 回日本肺癌学会総会 2010 年 11 月 3 日 広島市
 4. 吉田幸弘, 村川知弘, 中島 淳, 垣見和宏 他 自己活性化 $\gamma \delta T$ 細胞による非小細胞肺癌免疫療法。日本癌治療学会総会 2010 年 10 月 30 日 京都市
 5. 吉田幸弘, 垣見和宏, 金子亨, 後藤重則, 村川知弘, 深見武史, 杉浦未紀, 中島 淳 自己活性化 $\gamma \delta T$ 細胞による非小細胞肺癌免疫療法。第 47 回日本癌治療学会総会 2009 年 10 月 23 日、横浜市
 6. 有吉直子, 垣見和弘, 他 $\gamma \delta T$ 細胞治療に用いる $\gamma \delta T$ 細胞とその体内動態。第 14 回日本がん免疫学会総会 2010 年 7 月 22 日 熊本市
 7. 垣見 和宏 肺癌に対する免疫細胞治療 - ワクチン治療と細胞移入治療。第 158 回日本肺癌学会関東支部会 2010 年 6 月 26 日 東京都
 8. Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, Kakimi K. Adoptive immunotherapy for recurrent non-small cell lung cancer patients with autologous gammadelta T-cells. European Association for Cardio-Thoracic Surgery (EACTS) 2009 年 10 月 20 日、ウィーン(オーストリア)

[図書] (計 3 件)

1. 中島 淳 がんワクチン療法の進歩。Annual Review 呼吸器 2012 中外医学社、2012 年 pp.254-264,
2. 吉野 一郎, 中島 淳, 垣見 和宏 他 (座談会) 免疫療法は肺癌治療の選択肢に成りうるか? Lung Cancer Cutting Edge、株式会社アスカコーポレーション、3 巻、2012、pp.1-4
3. 中島 淳 肺癌において期待される新しい治療 肺癌に対する免疫療法(免疫細胞療法とがんペプチドワクチン療法) カレントセラピー、ライフメディコム社、29 巻、2011、pp.1039-1044

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://ctstokyo.umin.ne.jp/thoracic/ts.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中島 淳 (NAKAJIMA JUN)
 東京大学・医学部附属病院・教授
 研究者番号：90188954

(2) 研究分担者

垣見 和宏 (KAKIMI KAZUHIRO)
 東京大学・医学部附属病院・特任准教授
 研究者番号：80273358

村川 知弘 (MURKAWA TOMOHIRO)
 東京大学・医学部附属病院・講師
 研究者番号: 50359626

深見 武史 (FUKAMI TAKESHI)
 東京大学・医学部附属病院・助教
 研究者番号 40396742 (H21 年度)

吉田 幸弘 (YOSHIDA YUKIHIRO)
東京大学・医学部附属病院・特任助教
研究者番号 00529050 (H21 年度)

(3) 連携研究者 なし