

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 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009 ～ 2011

課題番号：21790665

研究課題名（和文） 膵臓癌に対する化学療法併用 WT1 ペプチドワクチン療法の開発と抗腫瘍免疫動態の解析

研究課題名（英文） WT1-specific immunological assessments in WT1-peptide-based cancer vaccine in combination with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer

研究代表者

西田 純幸（NISHIDA SUMIYUKI）

大阪大学・大学院医学系研究科・寄附講座助教

研究者番号：00403189

研究成果の概要（和文）：進行膵臓癌に対しジェムシタビン併用 WT1 ワクチン化学免疫療法臨床試験を実施し、治療経過中の WT1（癌関連抗原）特異的免疫モニタリングの実施並びに臨床効果との関連を見た。WT1 特異的免疫反応は、WT1 ペプチドに対する遅延型反応（DTH）と末梢血中の WT1 特異的免疫担当細胞（WT1-CTLs）を用いた。DTH 陽性症例では、生存期間延長が期待され、そのような症例では WT1-CTLs の記憶細胞の割合が高く維持されていることが明らかとなった。

研究成果の概要（英文）：A clinical study of WT1-peptide-based cancer vaccine (WT1 vaccine) in combination with gemcitabine was performed for the patients with advanced pancreatic cancer. I focused on the association between clinical efficiency and WT1-specific immunological monitoring, such as i) delayed-type hypersensitivity (DTH) to WT1 peptide and ii) WT1-specific cytotoxic lymphocytes in the peripheral blood (WT1-CTLs). An association between longer survival and DTH-positivity was statistically significant, and longer survivors had higher frequency of WT1-CTLs with memory phenotype.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

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：胆道学、膵臓学（膵臓癌）

1. 研究開始当初の背景

（1）膵臓癌の現状について：膵臓癌は本邦において増加傾向にあり、第 5 位のがん死因となっている。膵臓癌の約 8 割は、外科的切除の適応とならない進行癌の状態

で見られる。進行膵臓癌に対する治療は、化学療法剤のゲムシタビン（以下 GEM）単独療法があるが、治療奏効率は 10%程度、治療後の生存期間中間値は 6 ヶ月未満であり、多くは治療後 1 年以内に死亡し、発生

数と死亡数がほぼ同等と予後は極めて不良である。膵臓癌に対する現行治療の限界を打破するためには、新規治療の開発が不可欠であり、その中で期待されている治療法の1つが抗腫瘍免疫を用いたがん免疫療法である。

(2) WT1 ペプチドワクチン (WT1 ワクチン) 療法: WT1 遺伝子は、種々の悪性腫瘍に高発現していると共に、WT1 遺伝子産物に対する細胞性並びに液性免疫反応が多くのがん患者において認められている。つまり、WT1 遺伝子産物は、がん遺伝子的働きのみならず、がん抗原の1つであるといえる。そこで我々は WT1 遺伝子産物を標的としたがん免疫療法の1つとして WT1 ペプチドワクチン療法を開発し、種々の癌種に対して臨床試験を実施してきた。

(3) 進行膵臓癌に対する GEM 併用 WT1 ワクチン療法第 I 相臨床試験: 2008 年より手術不能進行膵臓がん患者を対象にその標準的化学療法である GEM 療法に WT1 ワクチン療法を加える化学免疫療法の実施可能性を確認する第 I 相臨床試験を実施してきた。全症例数は 32 例と少ないものの、全生存期間延長効果が期待される結果を得た。

2. 研究の目的

本研究では、“手術不能進行膵臓癌に対する GEM と WT1 ワクチン化学免疫療法第 I 相試験” 参加した患者の臨床検体を用いて、WT1 ペプチドワクチン免疫療法と GEM 化学療法の併用療法 (化学免疫療法) による免疫系全体に与える影響と腫瘍抗原特異的免疫に与える影響を詳細に解析し、本治療法の妥当性・実施可能性を明らかにし、免疫療法と化学療法の一見相入れない

関係にあると考えられてきた治療法の併用療法の確立を目的とした。

3. 研究の方法

WT1 ペプチドに対する免疫モニタリングとして、(i) WT1 ペプチドに対する遅延型反応 (DTH) と (ii) 末梢血を用いたテトラマー解析法を実施した。

(1) WT1 ペプチドに対する DTH と生存期間の統計解析

WT1 ペプチドに対する DTH 反応は治療前と治療後は各治療コースの day1 に実施。DTH 有無による生存期間の比較解析は Kaplan-Meier 法を用いて行った。

(2) WT1 特異的細胞障害性リンパ球 (WT1-CTLs) 解析

治療前と各治療コースの day1 に末梢血を採血し単核球を分離し、解析実施まで凍結保存した。WT1-CTLs 解析は、テトラマー法を用いた。更に WT1-CTLs の subtype 解析 (naïve, memory, effector) を各種表面抗原に対する抗体を用いて FACS 解析を行った。

4. 研究成果

(1) 免疫反応が誘導された症例 (DTH 陽性) における全生存期間の延長

GEM+WT1 ペプチドワクチン療法後の免疫モニタリングの1つとして、WT1 ペプチドに対する遅延型反応 (DTH) を全症例に実施した。その DTH の有無と生存期間との関係を見たところ、図1の通り、統計的有意差をもって DTH 陽性例での生存期間延長効果が明らかとなった。

(2) GEM と WT1 ペプチドワクチン併用による免疫系全体に与える影響の解析

末梢血中の CD3+CD8+T 細胞、

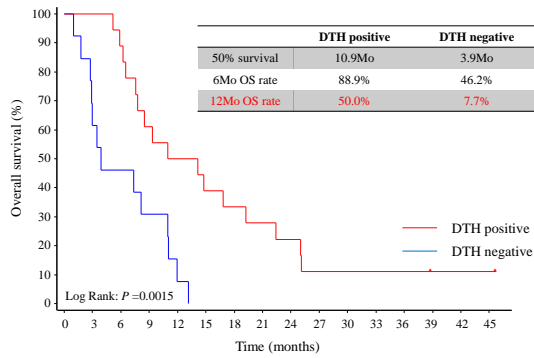


図1 DTHの有無と全生存期間

CD3+CD4+T 細胞、Treg 細胞それぞれについて、治療経過中の経時的変化を解析した。CD3+CD8+T 細胞は、治療中一時的な低下を認めた。一方、CD3+CD4+T 細胞、Treg 細胞はいずれも治療経過中、有意な低下を認めなかった。以上の結果は、GEM 化学療法による免疫系への影響が軽微であり WT1 ペプチドワクチン療法との併用は問題なく施行可能であることが示唆された。

(3) GEM と WT1 ペプチドワクチン併用による WT1 特異的抗腫瘍免疫の免疫学的動態解析

GEM 併用 WT1 ペプチドワクチン化学療法臨床試験に参加された症例の末梢血サンプルを用い、テトラマー法マルチカラーFACS で WT1 特異的細胞障害性T細胞(WT1tetramer+CD3+CD8+T 細胞)ならびにその phenotype の経時的な動態解析を行った。CD3+CD8+T 細胞中の WT1tetramer+CD3+CD8+T 細胞の割合は、WT1 ペプチドに対する免疫反応を認めた症例では、免疫反応を認めなかった症例に対して高い傾向があったが、統計的有意差は認めなかった。(図2)

WT1tetramer+CD3+CD8+T 細胞中の memory phenotype の割合は、WT1 ペプチドに対する免疫反応を認めた症例では、

免疫反応を認めなかった症例に対して治療前そして治療経過中も有意に高かった。(図3)

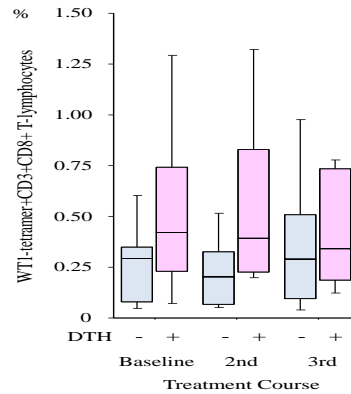


図2 WT1 テトラマー解析

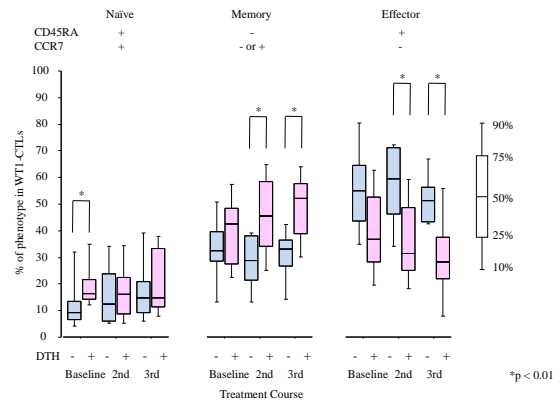


図3 WT1-CTLs subtype 解析

12 ヶ月以上の長期生存例では、この memory phenotype の割合は、治療前そして治療後も特に高く維持されていた。(図4)

WT1tetramer+CD3+CD8+T 細胞、特に memory phenotype が高く維持されることが、膵臓癌患者の臨床効果と関連し、本治療法有効性の prediction marker となることが示唆された。

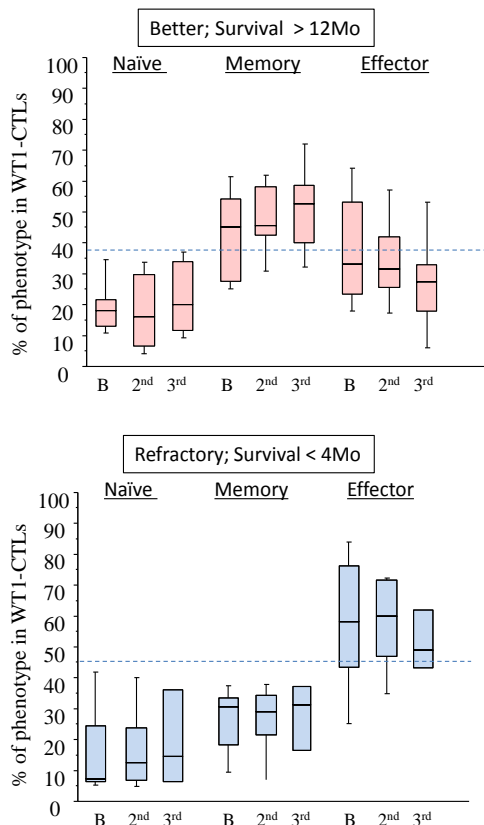


図4 長期生存例での subtype 解析
(上図：長期生存例 下図：不応例)

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)

[学会発表] (計9件)

① 西田 純幸 WT1 ペプチドを用いたがんの免疫療法多施設共同研究 日本バイオセラピー学会 2011年11月30日 ダイワロイヤルネットホテル和歌山(和歌山県)

② Nishida S, Memory WT1-CTLs is a useful marker to predict the clinical outcome; WT1 vaccine in the combination with gemcitabine. 日本癌学会 2011年10月4日 名古屋国際会議場(愛知県)

③ S. Nishida, Cancer immunotherapy combined with chemotherapy for pancreatic cancer; a phase 1 clinical trial of the combination therapy with gemcitabine and WT1-peptide-based cancer vaccine. 日本臨床腫瘍学会、2011年7月22日 横浜パシフィコ(神奈川県)

④ S. Nishida, WT1 PEPTIDE-BASED CANCER VACCINE IN COMBINATION WITH GEMCITABINE IN PATIENTS WITH ADVANCED PANCREATIC CANCER - PHASE 1 CLINICAL TRIAL, 5th International conference on WT1 in Human Neoplasia, 2011年4月15日 Italy Turin

⑤ S. Nishida, A Phase I study of WT1 peptide-based cancer vaccine combined with Gemcitabine for Advanced Pancreatic Cancer. 日本癌学会 2010年9月23日 大阪国際会議場(大阪府)

⑥ S. Nishida, Phase I clinical trial of WT1 peptide-based cancer vaccine in combination with gemcitabine in patients with advanced pancreatic cancer. Asia Clinical Oncology Society, 2010年8月26日 岐阜グランドホテル(岐阜県)

⑦ 西田純幸 WT1 ペプチドワクチン療法の癌に対する集学的治療への仲間入りを目指した臨床研究 日本がん免疫学会 2010年7月23日 KKRホテル熊本(熊本県)

⑧ 西田純幸 進行膵臓癌に対するゲムシタビン併用WT1 ペプチドワクチン療法 日本癌学会 2009年10月1日 横浜パシフィコ(神奈川県)

⑨ 西田純幸 WT1 ペプチドワクチンと塩酸ゲムシタビンを併用した進行膵臓癌に対する新たな治療戦略 日本癌免疫学会 2009年6月24日 北九州国際会議場(福岡県)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

西田 純幸 (NISHIDA SUMIYUKI)
大阪大学・医学系研究科・寄附講座助教
研究者番号：00403189

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：