

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 4 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2010～2013

課題番号：22390253

研究課題名(和文)膵・胆道癌に対する特異的癌ワクチン療法の確立

研究課題名(英文) Establishment of specific cancer vaccination therapy for pancreatic and biliary cancer.

研究代表者

江川 新一 (Egawa, Shinichi)

東北大学・災害科学国際研究所・教授

研究者番号：00270679

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円、(間接経費) 4,320,000円

研究成果の概要(和文)：膵癌・胆道癌は進行した状態で発見されると切除率も手術成績も不良で、抗がん剤や放射線などの集学的治療にも限界があります。本研究では腫瘍抗原のひとつとして最も注目されているWT1のペプチドワクチン治療を臨床研究として行い、抗がん剤に耐性となった膵胆道癌に対するパイロット試験で、ワクチン治療開始後の生存期間中央値8か月という良好な成績を得て、全国的な膵癌に対する臨床試験に発展しています。また、膵癌、膵神経内分泌腫瘍、膵腺房細胞癌においてWT1の発現率が高く、腫瘍抗原として有望であることが示されました。切除標本のプロテオミクス解析により膵癌の治療成績に関係する新たな分子標的も見つかっています。

研究成果の概要(英文)：Pancreatic and biliary cancer is still poor prognostic cancer though surgical, chemotherapeutic and radiological treatment is improving. In this research, we vaccinated the highest rank tumor associated antigen WT1 peptide to patients with chemo-refractory pancreatic cancer. Median survival rate of the patients was eight month in a certain condition resulting in the prospective randomized trial. We confirmed that pancreatic adenocarcinoma, neuroendocrine tumors and acinar cell carcinoma expressed WT1 frequently. We also found new molecular targets relevant to the prognosis from the resected specimen.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・消化器外科学

キーワード：ペプチドワクチン 膵癌 胆道癌 腫瘍関連抗原 WT1 プロテオミクス

1. 研究開始当初の背景

膵・胆道癌はいまだに集学的治療によっても不良な進行癌となることが多い。癌に対する免疫療法のなかでも“癌ワクチン療法”は、抗体療法とは異なり、標的となりうる分子（多くはタンパク質）の一部、あるいは腫瘍そのものの断片を用いて患者の免疫システムに認知させ、自分自身で癌を排除するように仕向けるため、より効率よく、より安価な治療として確立できる可能性がある。

私たちは、これまでに膵癌を標的として、SEREX法による腫瘍抗原を同定やEGFRを標的とした bispecific diabody 抗体を開発している。また、膵癌切除術後に門脈内 LAK 細胞投与し術後生存期間が有意に延長することを確認し、平成 21 年から東北大学病院において『化学療法抵抗性の進行・再発膵癌に対する WT1 ペプチドを用いた免疫治療パイロット研究』を開始している。癌ワクチン治療に対する進行癌患者の期待は極めて高く、国内で臨床研究を行っている施設には申し込みが殺到している。一方、同様の診療をかけた治療法を求めてさまよう患者にエビデンスのない治療を高額な自費診療として行っている実態も無視できない。したがって、有効な癌ワクチン療法の開発は急務である。

2. 研究の目的

本研究は標準的化学療法が無効な進行・再発した膵・胆道癌患者において、HLA のタイピングを行い、HLA が適合する場合には WT1 ペプチドによる癌ワクチン療法、適合しない場合には断片化した自己腫瘍細胞を負荷した DC1 樹状細胞による癌ワクチン療法の安全性と効果を見ることにより、難治性の膵・胆道癌に対する癌ワクチン療法の確立を行うことを目的とした。並行して、膵・胆道癌の培養細胞株を用いて WT1 を標的とした癌ワクチン作用のメカニズムを明らかにし、新たな癌ワクチン療法の標的となりうる腫瘍抗原を同定する。また、各種の膵腫瘍における WT1 発現を免疫染色により検討するとともに、膵癌の治療成績に關与する因子を臨床的なプロテオミクスあるいは、日本膵臓学会の膵癌登録データを用いてあきらかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

本研究は医師主導の臨床試験として行い、試験実施にあたっては東北大学大学院医学系研究科倫理委員会の承認を得る。標準的な抗癌剤耐性の進行・再発した膵・胆道癌患者で Performance Status が 0 または 1 を対象とする。患者を HLA により WT1 ペプチドワクチン群と DC1 癌ワクチン群とに分け、それぞれの癌ワクチン治療を抗がん剤治療と併用で行う第 1 相、早期第 2 相試験とする。治療開始前、経過中の末梢血単核球と血清を採取し、HLA 適合患者からは WT1 特異的 CTL の増減と有効性、臨床病理的因子との相関を明らかに

する。培養細胞株を用いて WT1 特異的 CTL の細胞障害活性を測定し、細胞株ごとの WT1 免疫療法感受性と抗がん剤感受性の相関を明らかにする。HLA 非適合患者では、臨床的効果があった患者血清を用いた SEREX 法により既知・未知を問わず新たな膵癌腫瘍抗原の探索を行うこととした。

免疫染色は、東北大学肝胆膵外科の切除症例を用いて、膵癌、IPMN、膵神経内分泌腫瘍、膵腺房細胞癌の標本を大阪大学と同じ方法にて免疫染色し、検討した。

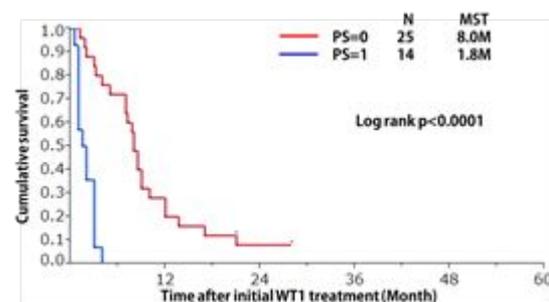
膵癌の治療成績に關与する因子の解析は、東北大学肝胆膵外科の膵癌切除症例において、臨床病期分類、手術手技、術後補助化学療法が同じにも関わらず、長期生存した症例と、短期に再発・転移により死亡した症例のパラフィン切片を用いたプロテオミクス解析により、両者の違いの原因となった因子を同定した。

4. 研究成果

『化学療法抵抗性の進行・再発膵癌に対する WT1 ペプチドを用いた免疫治療パイロット研究 (UMIN 000001515)』においては、すでに GEM あるいは S-1 に耐性となった進行、再発膵癌 39 例が登録され、目標回数である 8 回 (2 週間に 1 回として 16 週) のワクチン投与を終了したのは 22 症例であり 17 例においては、病変の進行のために 8 回未満でワクチン投与を終了せざるを得なかった。22 例の 8 回投与完了者のうち、15 例はそのまま 9 - 23 回のワクチン投与を受けた。副作用は、ほぼ全例において、Grade 1 の注射部位皮膚の発赤があった。重篤な副作用としては、ワクチン投与との因果関係は不明であるが、SMA 塞栓症 1 例、ストレス性心筋症 1 例、血小板減少症 1 例があった。PS0 の場合には 25 例中 20 例で 8 回を完了できたが、PS1 に低下している場合は、14 例中 2 例しか完遂できなかった。

全 39 例の累積生存率の生存期間中央値 (MST) は 4.0 か月であったが、PS により図のごとく、治療成績が大きく異なることも明らかとなった。

図 治療開始時の PS と累積生存率



一方で、PS0 の場合には、局所進行型であっても、遠隔転移を有していても累積生存率に有意差はなかった。

末梢血リンパ球における WT1 テトラマー陽性キラーT 細胞の増加や減少と治療効果の関係はあきらかではなかった。

これまでに報告されている進行再発膵癌に対する2次以降の治療法としては、8か月を超えるものは報告されておらず、それまでの化学療法とWT1ペプチドワクチンとを組み合わせる治療法の効果は、より大規模な比較試験にて検討されるべきであることがわかった。

そこで、大阪大学と共同で、膵癌の標準治療薬であるGEM単独治療と、GEMにWT1ペプチドワクチンを加えた併用療法を比較する無作為比較第II相試験『切除不能進行膵臓癌に対するゲムシタピン併用WT1ペプチドワクチン化学免疫療法とゲムシタピン単独療法のランダム化第II相臨床試験』を行うこととした。全国で150例の切除不能進行膵癌初回治療例を対象に現在も症例集積中である。

また、各種の膵腫瘍におけるWT1発現を免疫組織学的に検討した結果、いずれの腫瘍も60-70%にWT1陽性が確認され、かつ、膵神経内分泌腫瘍(PNET)では強く陽性に染色される腫瘍が多かった。病理学的因子とWT1の染色性には相関があり、IPMNにおいてはgastric typeよりもintestinal typeのほうが、WT1陽性率が高く、UICC Stageが進むほど陽性率が高かった。また、PNETではWHO2010分類におけるGrade1では陽性率が高く、Grade3では有意に低かった。

【考察】

WT1ペプチドワクチンは進行した膵癌患者に対して安全に抗がん剤と併用して投与可能であった。PSが低下している場合には効果があまり期待できないが、PS0の患者群において転移の有無にかかわらずワクチン開始後のMST8か月という成績が得られ、無作為比較第II相試験においてその効果が検証されている。WT1は各種の膵腫瘍において発現しており、膵癌のみならず、進行した各種膵腫瘍の治療効果について臨床試験を行う意義が示唆された。

日本膵癌登録のデータを用いてわが国の治療成績が向上していることを示した。WT1は、正常な細胞ではほとんど発現しない一方で、ほとんどの腫瘍で陽性である。WT1ペプチドワクチンにより、宿主の免疫からの回避機構をうちやぶることができれば、難治性といわれる膵・胆道癌の新しい治療法の一助となることのできる可能性を秘めている。

WT1は、弱い免疫染色態度をもって陰性とされがちだが、世界中のWT1研究者により免疫染色評価のコンソーシアムが形成されている。また、WT1は腫瘍血管内皮細胞に強く発現しており、WT1ペプチドワクチンは抗血管新生療法としての可能性も秘めている。膵癌の新しい分子標的の候補を探索する研究も同時に行った。背景が同じにも関わらず、術後1年以内に死亡した4例と、5年以上生存した4例の腫瘍細胞のタンパク質を

mass-spectrometryによって比較解析し、ECH1, OLFM4, STML2, GTR1を発現する腫瘍は有意に予後が不良であり、またNM23を発現する腫瘍も有意に予後が不良であることが判明した。このような解析によって新たな免疫治療の標的分子を見つける糸口となる。

【結語】

膵・胆道癌に対するWT1ペプチドワクチンの臨床試験と病理学的解析ならびに新たな腫瘍関連抗原の探索につながる分子標的の探索を行った。難治性の腫瘍に対する残された治療法である免疫療法開発研究は今後も積極的に推進されるべきである。

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46件)

1. Komatsu H, et al. (査読あり、10名中8番目) A GNAS Mutation Found in Pancreatic Intraductal Papillary Mucinous Neoplasms Induces Drastic Alterations of Gene Expression Profiles with Upregulation of Mucin Genes. *PLoS One*. 2014; 9(2): e87875. doi: 10.1371/journal.pone.0087875. eCollection 2014.
2. Morikawa T, et al. (査読あり、13名中12番目) Solid pseudopapillary neoplasms of the pancreas: an 18-year experience at a single Japanese Institution. *Surg Today*. 2013 Jan; 43(1):26-32. doi: 10.1007/s00595-012-0345-z.
3. Ueno H, et al. (査読あり、25名中21番目) Randomized Phase III Study of Gemcitabine Plus S-1, S-1 Alone, or Gemcitabine Alone in Patients With Locally Advanced and Metastatic Pancreatic Cancer in Japan and Taiwan: GEST Study. *J Clin Oncol*. 2013; 31(13): 1640-8. doi: 10.1200/JCO.2012.43.3680.
4. Hamada S, et al. (査読あり、13名中10番目) miR-197 induces epithelial-mesenchymal transition in pancreatic cancer cells by targeting p120 catenin. *J Cell Physiol*. 2013; 228(6): 1255-63. doi: 10.1002/jcp.24280.
5. Tsukamoto N, et al. (査読有、21名中2番目) The expression of S100A4 in human pancreatic cancer is associated with invasion. *Pancreas*. 2013 Aug; 42(6):1027-33. doi: 10.1097/MPA.0b013e31828804e7.
6. Yamaue H, et al. (査読あり、20名中18番目) Phase II clinical study of alternate-day oral therapy with S-1 as first-line chemotherapy for locally advanced and metastatic pancreatic

- cancer. *Cancer Chemother Pharmacol.* 2014 Jan;73(1):97-102. doi: 10.1007/s00280-013-2323-6
7. Yamamura A, et al. (査読あり、18名中14番目) Suppressed expression of NDRG2 correlates with poor prognosis in pancreatic cancer. *Biochem Biophys Res Commun.* 2013; 441(1): 102-7. doi: 10.1016/j.bbrc.2013.10.010.
 8. Motoi F, et al. (査読あり、14名中13番目) Neoadjuvant chemotherapy with gemcitabine and S-1 for resectable and borderline pancreatic ductal adenocarcinoma: results from a prospective multi-institutional phase 2 trial. *Ann Surg Oncol.* 2013; 20(12): 3794-801. doi: 10.1245/s10434-013-3129-9
 9. Maetani S, et al. (査読あり、13名中12番目) Parametric estimation of cure rate in gastric, colonic and pancreatic cancers. *Tenri Med Bullet* 2013; 16(2): 70-78. doi: 10.12936/tenrikiyo.16-017
 10. Kinouchi M, et al. (査読あり、15名中13番目) Infiltration of CD40-Positive tumor-associated macrophages indicates a favorable prognosis in colorectal cancer patients. *Hepatogastroenterology.* 2013; 60(121):83-8. doi: 10.5754/hge12372
 11. Takadate T, et al. (査読あり、18名中16番目) Novel prognostic protein markers of resectable pancreatic cancer identified by coupled shotgun and targeted proteomics using formalin-fixed paraffin-embedded tissues. *Int J Cancer.* 132(6):1368-82. doi: 10.1002/ijc.27797
 12. Takadate T, et al. (査読あり、19名中17番目) Nm23/Nucleoside Diphosphate Kinase-A as a Potent Prognostic marker in Invasive Pancreatic Ductal Carcinoma Identified by Proteomic Analysis of Laser Micro-dissected Formalin-Fixed Paraffin-Embedded Tissue. *Clin Proteomics.* 2012; 9(1):8-18. doi: 10.1186/1559-0275-9-8.
 13. **Okada T**, et al. (査読あり、筆頭) Severe cholestatic liver failure associated with gemcitabine adjuvant monotherapy for pancreatic cancer. *Clin J Gastroenterol* 2011; 4: 391-395. Doiなし
 14. **Egawa S**, et al. (査読あり、筆頭) Distal pancreatectomy (with video). *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 135-140. doi: 10.1007/s00534-011-0471-9.
 15. Motoi F, et al. (査読あり、3名中2番目) Middle pancreatectomy. *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2012; 19: 148-151. doi: 10.1007/s00534-011-0477-3.
 16. Ohmine K, et al. (査読あり、7名中5番目) Attenuation of phosphorylation by deoxycytidine kinase is key to acquired gemcitabine resistance in a pancreatic cancer cell line: Targeted proteomic and metabolomics analyses in PK9 cells. *Pharm Res* 2012; 29(7):2006-16. doi: 10.1007/s11095-012-0728-2
 17. Katayose Y, et al. (査読あり、13名中12番目) Lymph node metastasis is a risk factor for bone metastasis from extrahepatic cholangiocarcinoma. *Hepato-Gastroenterol* 2012; 59: 1758-1760. doi: 10.5754/hge11806
 18. Katayose Y, et al. (査読あり、13名中12番目) An analysis of a second-line S-1 monotherapy for gemcitabine-refractory biliary tract cancer. *Hepatogastroenterology.* 2012 May;59(115):691-5. doi: 10.5754/hge11530
 19. Saiki Y, et al. (査読あり、23名中21番目) DCK is frequently inactivated in acquired gemcitabine-resistant human cancer cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 2012; 421(1): 98-104. doi: 10.1016/j.bbrc.2012.03.122.
 20. Motoi F, et al. (査読あり、5名中2番目) Randomized clinical trial of external stent drainage of the pancreatic duct to reduce postoperative pancreatic fistula after pancreaticojejunostomy. *Br J Surg* 2012; 99:524-531. Doiなし
 21. Shima K, et al. (査読あり、15名中12番目) Potential utility of eGFP-expressing NOG mice (NOG-EGFP) as a high purity cancer sampling system. *J Exp Clin Cancer Res.* 2012; 31: 55-61. doi: 10.1186/1756-9966-31-55.
 22. Maeda S, et al. (査読あり、12名中11番目) Paclitaxel as second-line chemotherapy in patients with gemcitabine-refractory pancreatic cancer: a retrospective study. *Int J Clin Oncol* 2011; 16: 539-545. doi: 10.1007/s10147-011-0220-8
 23. Furukawa T, et al. (査読あり、17名中8番目) Prognostic relevance of morphological types of intraductal papillary mucinous neoplasms of the pancreas. *Gut* 2011; 60: 509-516. doi:

- 10.1136/gut.2010.210567.
24. Oishi H, et al. (査読あり、8名中3番目) Blockade of delta-like ligand 4 signaling inhibits both growth and angiogenesis of pancreatic cancer. *Pancreas* 2010; 39: 897-903. doi: 10.1097/MPA.0b013e3181ce7185
 25. Unno M, et al. Major hepatectomy for perihilar cholangio- carcinoma. (査読あり、9名中9番目) *J Hepatobiliary Pancreat Sci* 2010; 17: 463-469. doi: 10.1007/s00534-009-0206-3.
 26. 申榮柱 (指導: 江川新一) ヒト各種膵腫瘍における腫瘍関連抗原WT1の免疫組織学的検討. 修士論文. 2013
 27. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 疫学からみた膵癌の高危険群と早期診断. *肝胆膵* 2013; 66(2) 251-259.
 28. 砂村真琴, 他. 膵癌に対する樹状細胞療法. *臨床外科* 2013; 68 (8), 926-933.
 29. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵癌切除例における術前補助化学療法. *癌の臨床*. 2012; 58(5): 247-254.
 30. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵癌 5) 術前術後補助療法の現状と課題. *腫瘍内科* 2012; 9(6): 718-726.
 31. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵神経内分泌腫瘍の外科. *日本内分泌・甲状腺外科学会雑誌* 2012; 29(1): 39-42.
 32. 片寄友, 他. (査読なし、7名中6番目) 胆道癌 術前療法. *臨床外科* 2011; 66: 190-195.
 33. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 小膵癌. *別冊日本臨牀* 2011; 16: 2 た 81-284.
 34. 片寄友, 他. (査読なし、5名中4番目) 胆管癌に対する術前化学療法による集学的治療. *消化器内科* 2011; 52: 420-424.
 35. 江川新一. (査読なし、筆頭) 膵癌登録からみた膵癌取扱い規約とWHO分類の異同と課題. *胆と膵* 2011; 32: 1279-1288.
 36. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵癌 5. 外科治療の進歩. *日本内科学会雑誌* 2011; 101: 37-42.
 37. 三浦孝之, 他. (査読あり、10名中9番目) 浸潤性膵管癌切除後6年間無再発であった異時性浸潤性膵管癌の1例. *日本消化器外科学会雑誌* 2011; 45: 304-311.
 38. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵癌に対するWT1ペプチドワクチン治療の背景. *胆と膵* 2010; 32: 141-144.
 39. 江川新一, 他. (査読なし、筆頭) 膵癌登録 臓器がん登録の現状と将来展望 臨床へのフィードバックを目指して 外科治療 2010; 104: 378-386.
 40. 元井冬彦, 他. (査読なし、5名中4番目) Stage IV 局所進行膵癌の治療戦略: 術前治療(NAC)とR0切除を目的とした後腹膜一括切除(en-bloc dissection: EBD). *消化器内科* 2010; 50: 288-296.
 41. 乙供茂, 他. (査読なし、4名中3番目) 膵癌における進行度診断. *消化器外科* 2010; 33: 1049-1056.
 42. 森川孝則, 他. (査読あり、10名中9番目) 無治療にて2年9カ月経過後に治癒切除施行し得た胆管内発育型肝内胆管癌の1例. *胆道* 2010; 24: 105-111.
 43. 高館達之, 他. (査読あり、11名中10番目) 食道癌術後胃管浸潤を来した広義の肝門部胆管癌および下咽頭癌の同時性重複癌の1例. *日本胆道学会雑誌* 2010; 24: 204-208.
 44. 元井冬彦, 他. (査読なし、5名中4番目) 術前治療とR0をめざした後腹膜一括郭清. *外科* 2010; 72: 734-742.
 45. 元井冬彦, 他. (査読なし、5名中4番目) 病期群別解析による膵癌切除例の長期生存の条件. *消化器内科* 2010; 51: 173-179
 46. 江川新一. 全国登録による膵癌切除術後長期生存者の解析. *消化器内科* 2010; 51: 154-161.
- 〔学会発表〕(計9件)
1. Egawa S, et al. Long-term follow up of Wilms Tumor 1 (WT1) peptide vaccinated patients with chemorefractory advanced pancreatic cancer. 6th International Symposium on WT1 in Human Neoplasia. (2012年11月22日、京都)
 2. 江川新一, 他. 切除可能膵癌に対する化学療法の新しい展開. 第50回日本癌治療学会 (2012年10月26日、横浜)
 3. 江川新一, 他. 膵神経内分泌腫瘍(pNET)の外科治療. 第67回日本消化器外科学会 (2012年7月19日、富山)
 4. 江川新一, 他. 膵体尾部切除. 第24回日本肝胆膵外科学会 (2012年5月30日、大阪)
 5. 江川新一, 他. 膵癌切除例における術前補助化学療法. 第98回日本消化器病学会 (2012年4月20日、東京)
 6. 江川新一, 他. 膵癌切除例における術前補助化学療法. 第112回日本外科学会学術集会 (2012年4月12日、幕張)
 7. Egawa S, et al. Pilot trial of Wilms Tumor 1 (WT1) peptide vaccine therapy for chemorefractory advanced pancreatic cancer. 5th International Conference of WT1 in Human Neoplasia (2011年4月15日、トリノ、イタリア)
 8. Egawa S, et al. Pilot trial of Wilms tumor 1 (WT1) peptide vaccine therapy for chemorefractory advanced pancreatic cancer. Joint meeting of International Association for Pancreatology and Indian Pancreas

Club. (2011年2月12日、コーチン、インド)

9. **江川新一**、他. 薬剤耐性の進行・再発膵癌に対する抗癌剤を併用したWT1ペプチドワクチン療法. 第65回日本消化器外科学会総会 (2010年7月15日、山口)

〔図書〕(計 3件)

1. **江川新一**. わが国における膵がんの現状. p36-45 船越顕博 編, インフォームドコンセントのための図説シリーズ膵がん 改訂3版. 医薬ジャーナル社 2013年版
2. **江川新一**. CQ2-1 Stage IVa膵癌に対する手術的切除療法の意義はあるか? P55-57. 日本膵臓学会. 科学的根拠に基づく膵癌診療ガイドライン 2013年版 (金原出版、東京).
3. **江川新一**. CQ2-8 膵癌では手術例数の多い施設で治療を受けるのがよいか? p76-79. 日本膵臓学会. 科学的根拠に基づく膵癌診療ガイドライン 2013年版 (金原出版、東京).

〔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://www.surg1.med.tohoku.ac.jp/>

<http://www.irides-icdm.med.tohoku.ac.jp/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

江川 新一 (Egawa, Shinichi)
東北大学・災害科学国際研究所・教授
研究者番号: 00270679

(2)研究分担者

林 洋毅 (Hayashi, Hiroki)
東北大学・病院・助教
研究者番号: 30422124

坂田 直明 (Sakata, Naoaki)
東北大学・病院・助教
研究者番号: 50431565

岡田 恭穂 (Okada, Takaho)
東北大学・病院・助教
研究者番号: 10375074

(3)連携研究者

なし