

平成 26 年 6 月 5 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790708

研究課題名(和文) 進行固形腫瘍患者に対する化学療法併用新規免疫細胞療法の検討

研究課題名(英文) A Research for an immunotherapy combined with chemotherapy for patients with advanced solid tumors.

研究代表者

土方 康基(Hijikata, Yasuki)

九州大学・大学病院・助教

研究者番号：80460856

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円、(間接経費) 960,000円

研究成果の概要(和文)：本臨床試験への参加目標患者10名への免疫細胞(RNF43パルス樹状細胞、Tリンパ球)接種を完遂、重篤な有害事象発生なく、本療法は安全に実施可能であった。治療開始4、7週後の臨床効果判定では、各々9、6名で病状の安定化を、1、4名が進行を認めた。免疫学的評価ではシクロフォスファミド投与により末梢血中制御性T細胞数が有意に低下し、低下の程度が大きいほど良好な臨床効果を認め、血清IL-6、-10濃度が高い症例では臨床効果が認められず、効果予測因子となり得ると考えられた。また腫瘍抗原RNF43特異的T細胞応答と臨床効果間には有意な相関を認めた。以上より本免疫細胞療法の安全性と有用性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：Ten patients with advanced solid tumors were completed with the clinical trial. None of the patients suffered from severe adverse events. Clinical responses at 4 and 7 weeks after the treatment respectively showed that 9 and 5 patients were in stable disease (SD), and 1 and 4 patients were in progress disease (PD). The frequency of circulating regulatory T cells (Treg) significantly decreased after cyclophosphamide (CPM), and the higher decreasing rate of Treg was related with good clinical response. The positive response rate of RNF43-specific circulating T cells significantly increased in SD cases. Higher levels of serum IL-6 and IL-10 prior to the treatment were observed in PD cases. In conclusion, the combination of immunotherapy and CPM was tolerable, and may induce tumor specific immune responses accompanied by the reduction of Tregs and be efficient against advanced solid tumors. Both of IL-6 and IL-10 are considered to be good biomarkers to predict clinical response in advance.

研究分野：消化器

科研費の分科・細目：消化器

キーワード：腫瘍免疫学 細胞傷害性T細胞 RNF43 免疫寛容 臨床試験 樹状細胞 癌

1. 研究開始当初の背景

進行固形腫瘍に対する治療は手術、化学療法、放射線療法など標準的治療の進歩によりその成績は向上しているものの、十分とは言い難く、新しい治療法を開発することが社会的にも強く望まれている。近年、悪性黒色腫や前立腺癌など一部の固形腫瘍では、免疫療法の有効性が報告されてきている。このような背景から我々は固形腫瘍に対する新規免疫療法の開発を行い、進行性固形腫瘍患者に対する癌ペプチドワクチン療法や樹状細胞療法などの臨床試験を遂行してきた。今回、新たに新規免疫細胞療法を検討する。

2. 研究の目的

これまで固形腫瘍に対する免疫療法の臨床研究が多くなされ、患者体内における抗腫瘍免疫誘導が多く報告されているが、同時に制御性免疫系が抗腫瘍効果を抑制していることも報告されている。そこで我々は、腫瘍抗原と免疫寛容を標的とした化学療法併用抗腫瘍免疫細胞療法による第 I 相臨床試験をデザインし、その安全性を検証した。副次目的として免疫反応、臨床効果についても検討した。

3. 研究の方法

本臨床研究は標準治療不応の進行固形腫瘍患者で、HLA-A*2402 または HLA-A*0201 を有し、かつ *RNF43* 遺伝子高発現腫瘍を有している患者を対象とする。患者末梢血単核球由来樹状細胞(DC)を作成し、HLA 拘束性 *RNF43* ペプチド抗原をパルスした成熟 DC と患者末梢血リンパ球との共培養により *RNF43* ペプチド抗原特異的活性化リンパ球を誘導する。免疫寛容関連因子の排除を目的とした少量シクロフォスファミド(CPM)投与後、この活性化リンパ球および *RNF43* ペプチドパルス DC の併用投与を行う。また *RNF43* ペプチド特異的活性化リンパ球数を 2 群(各群 5 例、合計 10 例)に分けた容量漸増試験である。本試験の完遂を目指すと共に本療法の安全性および抗腫瘍効果を明らかにする。特に安全性評価

ならびに臨床効果と免疫反応の関連性を検討し、将来臨床効果を期待できる患者群を選択し得る有用なバイオマーカー (valid biomarker) を検索する。具体的には 1) 樹状細胞の成熟化と腫瘍特異的 CTL の誘導、2) CPM 投与の制御性 T 細胞への影響、3) 治療前後における腫瘍免疫増強関連サイトカインもしくは免疫寛容関連サイトカインの変化、1)~3) と抗腫瘍効果との関連性を検討し、4) 当科で完遂した *in vivo* 抗腫瘍免疫の誘導を試みる癌ペプチドワクチン療法と *ex vivo* で抗腫瘍免疫誘導を試みる本療法との比較・特徴づけや対象患者の適正評価を行う。

4. 研究成果

適応患者が少なく症例集積に長期間を要したが目標症例 10 例を完遂することができた。主要評価項目の安全性評価は、Common Terminology Criteria for Adverse Events v4.0 による有害事象評価法に基づき行われた。全症例で Grade2 以下の樹状細胞接種部位の注射部位反応が認められたが、他に本療法による重篤な有害事象は認められず、認容できるものであった。副次評価項目である臨床効果は治療開始 4 週間後に 10 例中 9 例が安定 (Stable Disease; SD)、1 例が進 (Progressive Disease; PD)、7 週間後では 10 例中 6 例が SD、4 例が PD であった。SD 中 3 例で腫瘍マーカーの低下や一部腫瘍の縮小ならびに水腎症の改善等明らかな臨床的効果が確認された。免疫学的評価は現在も解析中であるが、少量の CPM 投与後に末梢血中の制御性 T 細胞割合が有意に低下し、低下の程度が大きいほど臨床効果が良い傾向が認められた。また末梢血中の *RNF43* 特異的反応性 T 細胞の割合が増加した症例では良好な臨床効果を認め、同 T 細胞割合と臨床効果間の関連性が示唆された。さらに、血清サイトカイン(IL-6、IL-10)濃度が高い症例では臨床効果が認められない傾向にあった。以上の様に、各種免疫学的解析による効果予測因子等の

検索は、有効性が期待できる症例の選択や免疫療法継続の適応決定上重要であると考えられた。尚、本療法に用いた細胞製剤は Good Manufacturing Practice 準拠細胞調製室で調製が行われ、細胞表面マーカー、細胞数、無菌検査等全例品質試験に問題なく出荷基準を満たし安全に投与が行われた。しかしながらこれらの製剤を作成する為の試薬・培養経費、施設維持費などを如何に安価にできるかも今後の課題である。

In vivo で抗腫瘍免疫誘導を試みるペプチド癌ワクチン療法は効果発現までに時間を要し、進行癌患者は一般に免疫寛容環境下にあり病勢が早いため、それに対応できる十分な抗腫瘍免疫の増強は短時間には期待できにくい。従って術後アジュバント療法を含む小腫瘍量症例等が、癌ワクチン療法の対象として適切であると考えられる。一方、本細胞療法は腫瘍量が多い症例でも有効性が観察されており、抗腫瘍免疫誘導迄の時間的余裕がなく、腫瘍量が多い患者でも適応となり得ることが示唆された。

今後、各種免疫療法への適応患者選択を可能とする早期効果予測因子等のバイオマーカー検索がさらに重要であると考えられた。

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) TLR7 Ligand Augments GM-CSF-Initiated Antitumor Immunity through Activation of Plasmacytoid Dendritic Cells. 査読有
Narusawa M, Inoue H, Matsumura Y, Takahashi A, Inoue T, Watanabe A, Miyamoto S, Miura Y, Hijikata Y, Tanaka Y, Inoue M, Takayama K, Okazaki T, Hasegawa M, Nakanishi Y, Tani K. *Cancer Immunol Res.* 2014 Apr 10; 2(6): 1-13. DOI: 10.1158/2326-6066.CIR-13-0143
2) Development of novel immune therapies for solid tumors: phase I clinical trials in a single institute. Hijikata Y, Murahashi
-Iga M, Okazaki T, Tanaka Y, Odaira K, Okano S, Hisano T, Takahashi A, Marumoto T, Inoue H, Tani K. *Rinsho Ketsueki.* 2012 May; 53(5): 487-92. 査読有 DOI: <http://dx.doi.org/10.11406/rinketsu.53>.

487

3) Absence of LTB4/BLT1 axis facilitates generation of mouse GM-CSF-induced long-lasting antitumor immunologic memory by enhancing innate and adaptive immune systems. Yokota Y, Inoue H, Matsumura Y, Nabeta H, Narusawa M, Watanabe A, Sakamoto C, Hijikata Y, Iga-Murahashi M, Takayama K, Sasaki F, Nakanishi Y, Yokomizo T, Tani K. *Blood.* 2012 Oct 25; 120(17): 3444-54. 査読有

<http://dx.doi.org/10.1182/blood-2011-10-383240>

4) 樹状細胞療法の現状 宮本将平 土方康基 岡崎利彦 谷憲三朗 臨床と研究 H23 年第 88 巻 4 号

[学会発表] (計 9 件)

1) 土方康基: 進行固形腫瘍患者に対する少量シクロフォスファミド併用 RNF43 ペプチド特異的細胞療法第 I 相臨床試験 第 12 回に本臨床主要学会学術集会 2014 年 7 月 17 日 福岡市

2) Hijikata Yasuki: A Phase I Clinical trial of RNF43 Peptide-specific Immune Cell Therapy Combined with Low Dose Cyclophosphamide for Patients with Advanced Solid Tumors. The 5th JSH International Symposium. 2014 年 5 月 24 日 Hamamatsu city

3) Hijikata Yasuki: A Phase I clinical trial of RNF43 peptide-specific immune cell therapy combined with low dose cyclophosphamide for patients with advanced solid tumors. American Association for Cancer Research Annual Meeting 2014 年 4 月 8 日 米国 San Diego

4) 土方康基、他: 当科における難治性悪性腫瘍に対する免疫療法臨床試験の現状。第 11 回日本免疫治療学研究会学術集会 2014 年 2 月 22 日 東京都文京区

5) 土方康基、他: 進行固形腫瘍患者に対する新規免疫細胞療法第 I 相臨床研究 第 51 回日本癌治療学会学術集会 2013 年 10 月 26 日 京都市

6) 土方康基、他: 進行固形腫瘍に対する化学療法併用新規免疫細胞療法第 I 相臨床研究 第 72 回日本癌学会 2013 年 10 月 5 日 横浜市

7) 土方康基、他: RNF43 ペプチドパルス樹状細胞療法ならびに RNF43 ペプチドパルス特異的活性化リンパ球を用いた進行固形腫瘍患者に対する強化養子免疫療法第 I 相臨床研究 第 5 回造血器腫瘍免疫療法研究会 2013 年 8 月 24 日 名古屋市

8) 土方康基、他: 進行固形腫瘍患者に対する化学療法併用新規免疫細胞療法臨床研究 第 50 回日本癌治療学会学術集会 2012 年 10 月 26 日 横浜市

9) 土方康基、他: RNF43 ペプチドパルス樹状細胞療法ならびに RNF43 ペプチドパルス特異

的活性化リンパ球を用いた進行固形腫瘍患者に対する強化養子免疫療法第一相臨床試験 第4回造血器腫瘍免疫療法研究会 2012年8月18日 金沢市

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.umin.ac.jp/ctr/index-j.htm>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土方康基 (HIJIKATA, Yasuki)

九州大学病院 先端分子・細胞治療科・診療講師

研究者番号：80460856

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：