

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 24 日現在

機関番号：37104

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25462281

研究課題名(和文) 悪性グリオーマに対するミュータノーム・データベース構築

研究課題名(英文) Construction of mutanome database for malignant gliomas

研究代表者

寺崎 瑞彦 (Terasaki, Mizuhiko)

久留米大学・医学部・准教授

研究者番号：70320223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：グリオーマに対する個別化ワクチン新規治療開発を目的として、これまでに行った治験15例から増大判定規準を統計学的に再評価した結果、WHO規準で54%、RECIST規準で43%増大が個別化ワクチン治療の死亡率閾値であることが判明した。また、77例の臨床データ、免疫組織学、RNA検査によってサイトカイン・炎症反応と腫瘍内免疫逃避機構、個別化ワクチンの効果に相関が認められた。

研究成果の概要(英文)：For the purpose of novel therapeutic development personalized vaccine against glioma, we re-evaluated progression criteria with 15 enrolled glioma patients statistically. As a result, 54% in the WHO criteria, 43% increase in RECIST criteria were therapeutically mortality threshold. In addition, from clinical data, immunohistochemistry and RNA testing of 77 samples, cytokines and/or inflammatory responses were correlated to the the immune escape mechanism, furthermore clinical response of personalized vaccine therapy.

研究分野：脳腫瘍

キーワード：脳腫瘍 グリオーマ 個別化ワクチン 免疫逃避 治療効果

1. 研究開始当初の背景

悪性神経膠腫(グリオーマ)は、瀰漫性・浸潤性発育を特徴とする極めて予後不良のがんであり、未だ制御困難である。近年、さまざまな遺伝子異常が見つかり、中でも、免疫逃避、増殖、のプロセスに重要な遺伝子発現・変異もいくつか報告され、治療抵抗性克服に注目されている。しかしながら、希少がんであり臨床試験サンプリングが少ないことや画像評価が客観的になること、ターゲット分子の特定が難しく治療のターゲットとしての見通しが立っていないのが現状である。

我々はこれまでに悪性脳腫瘍に関する分子機構解明と臨床研究を一貫して行ってきた。これまでに悪性グリオーマや中枢神経原発悪性リンパ腫において遺伝子、蛋白発現レベルでの分子解析をもとに治療奏効や効果検討を行い、個別化癌抗原をターゲットとした基盤研究をもとにした個別化がんワクチン臨床研究を行い良好な成績を報告してきた。しかしながら、さらなる治療向上のため、新たな個別化治療におけるターゲット分子のデータ構築が急務と考える。

2. 研究の目的

これまで行われたワクチン治療症例、臨床症例、種々の細胞株を用いて、免疫賦活データを再評価し、生存、治療効果、免疫逃避に関わるサイトカイン・ケモカインを検討し、その生物学的意義を明らかにすることで、当該疾患における治療の高効率化および個別化新規治療開発を目指す。

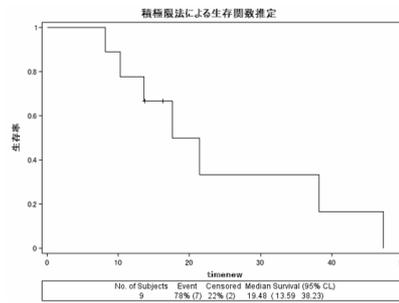
3. 研究の方法

まず、これまで行われたワクチン治療症例 15 例を対象として統計学的に治療評価を再検討を行った。各症例の 6 週間ごとの MRI 画像から WHO, RECIST 評価を算出し、統計学的に ROC 曲線を算出。また、同時に各症例における治療前後での IgG 抗体価とサイトカイン(IL-6, CRP, 血清アミロイド A 蛋白)を測定し、相関関係を検討した。

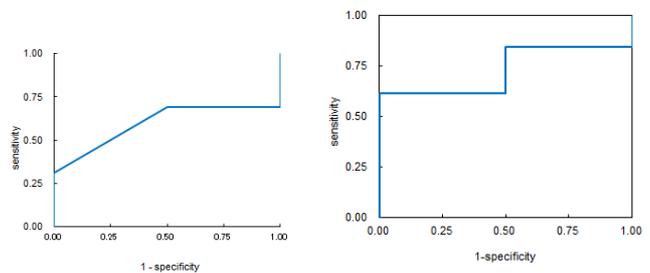
また、臨床症例として悪性グリオーマ 77 例、12 例の凍結組織標本を用いて RT-PCR、免疫組織学的にエンドセリン B 受容体の発現を検討した。

4. 研究成果

治療対象者の内訳はいずれも再発膠芽腫症例 15 例。ワクチン 6 回毎週投与(1クール)での最小投与は 1 クール、最大投与 14 クールであった。投与後生存期間中央値は 19.48 週であった。



これらの各投与後の MRI から WHO, RECIST 評価を算出し、ROC 曲線から特異度、感度を算出し閾値を算定し、WHO 基準で 54%、RECIST 基準で 43%が増大に伴う死亡の閾値であることが判明した。



また各症例のワクチン投与前後でのサイトカイン(SAA, CRP, IL-6)を測定し、相関関係を検討した。

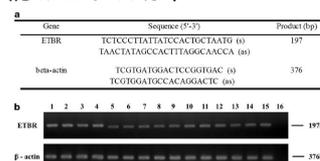
結果、炎症の有無にかかわらず、5 回投与では 50%の症例に、11 回投与では 75%の症例に IgG 抗体価増強が確認された。

Cytokine	IgG argumentation (n = 8)		IgG no-argumentation (n = 11)		Total (n = 19)	P value	
	Median	[25, 75 percentiles]	Median	[25, 75 percentiles]			
Pre-vaccinated status							
SAA	14980.7	[4582.89, 42802.4]	31347.4	[8437.31, 66877.9]	23222.3	[5606.85, 56688.3]	0.3859
CRP	3652.82	[1114.86, 5388.69]	3586.99	[692.27, 7626.05]	3586.99	[721.314, 6642.42]	1
IL-6	-7.071	[-8.0538, -3.3297]	-6.8814	[-8.7779, -4.2607]	-6.8814	[-8.0883, -4.2607]	0.9342
Post-vaccinated status							
SAA	10019	[2826.35, 149727]	85425.7	[12966, 187822]	68409.7	[5873.25, 176833]	0.1731
CRP	4801.03	[2100.91, 9926.82]	4677.11	[835.554, 10269.1]	4677.11	[1056.29, 10269.1]	0.5357
IL-6	-6.9676	[-7.7262, 1.54093]	-5.64	[-8.2952, 5.94606]	-6.8469	[-7.7434, 4.2909]	0.7726
During vaccinated status							
SAA	-1548.4	[-20762, 34348.4]	6560	[-499.49, 120944]	1831.47	[-2963.7, 45187.4]	0.1731
CRP	1176.28	[-955.55, 2160.88]	739.655	[-515.05, 1214.04]	828.723	[-515.05, 1446.39]	0.5915
IL-6	0.46551	[-0.6638, 5.60339]	1.24137	[-0.3793, 3.41376]	0.5862	[-0.3793, 3.41376]	0.7411

*Wilcoxon test

このことからグリオーマにおいて、全身性炎症所見の有無はワクチン治療の効果には影響されないことが示唆された。

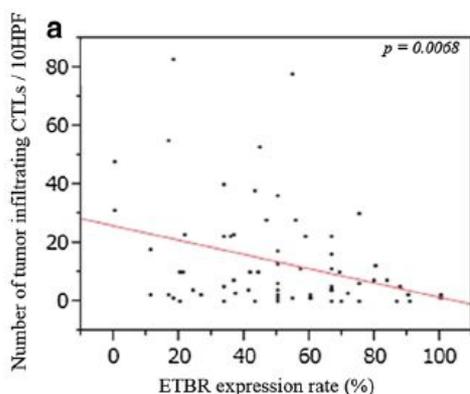
予備研究として、悪性リンパ腫においてケモカイン(CXCL12.13)とエンドセリン B 受容体が細胞傷害性 T 細胞の腫瘍内役割に大きく関わっていることが判明していたため、このケモカインのグリオーマ内での生物学的意義を検討したところ、mRNA の発現はすべてのグリオーマにて発現が認められたが、



その発現レベルは悪性度と発現、特に血管内皮への相関関係が認められた。



また同時に細胞傷害性 T 細胞の誘導減少も確認された。



以上の結果から、グリオーマにおいて全身性サイトカインは免疫治療効果に影響は示さないものの、局所でのサイトカイン ETBR は免疫逃避誘導につながるため、ETBR は新たなターゲットとしての可能性が示された。

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 14 件)

1. Nakashima S, Sugita Y, Miyoshi H, Arakawa F, Muta H, Ishibashi Y, Niino D, Ohshima K, Terasaki M, Nakamura Y, Morioka M: Endothelin B receptor expression in malignant gliomas: the perivascular immune escape mechanism of gliomas. 査読有. Journal of Neuro-Oncology. 2016;127(1):23-32 DOI: 10.1007/s11060-015-2017-5
2. Sugita Y, Terasaki M, Tanigawa K, Ohshima K, Morioka M, Higaki K, Nakagawa S, Shimokawa S, Nakashima Susumu: Gliosarcomas arising from the pineal gland region: uncommon localization and rare tumors. 査読有.

Neuropathology. 2016;36(1):56-63

DOI: 10.1111/neup.12226

3. Furuse M, Nonoguchi N, Kuroiwa T, Miyamoto S, Arakawa Y, Shinoda J, Miwa K, Iuchi T, Tsuboi K, Houkin K, Terasaka S, Tabei Y, Nakamura H, Nagane M, Sugiyama K, Terasaki M, Abe T, Narita Y, Saito N, Mukasa A, Ogasawara K, Beppu T, Kumabe T, Nariai T, Tsuyuguchi N, Nakatani E, Kurisu S, Nakagawa Y, Miyatake S. A prospective, multicentre, single-arm clinical trial of bevacizumab for patients with surgically untreatable, symptomatic brain radiation necrosis. 査読有. Neuro-Oncology Practice. 2016: in press DOI: 10.1093/nop/npv064
4. Terasaki M. Vaccine therapy. 査読有. Nihon Rinsho. 2016: in press
5. Sato I, Higuchi A, Yanagisawa T, Mukasa A, Ida K, Sawamura Y, Sugiyama K, Saito N, Kumabe T, Terasaki M, Nishikawa R, Ishida Y, Kamibeppu K: Parent 's perceived provision of information regarding diagnosis to children with brain tumors. 査読有. Open Journal of Nursing. 2015;5(5):451-464 DOI: 10.4236/ojn.2015.55048
6. Sugita Y, Terasaki M, Nakashima S, Ohshima K, Morioka M, Abe H: The perivascular microenvironment in primary central nervous system lymphomas: the role of chemokines and the endothelin B receptor. 査読有. Brain Tumor Pathology. 2015;32(1):41-48 DOI: 10.1007/s10014-014-0206-0
7. 寺崎瑞彦, 森岡基浩: Central Nervous System Tumor: Glioma 脳腫瘍: グリオーマ . 膠芽腫に対するペプチドワクチン療法. 査読有. 癌と化学療法 2014;41(6):725-729
8. Sugita Y, Terasaki M, Morioka M, Nakashima S, Nakamura Y, Ohshima K: Ependymosarcoma with eosinophilic granular cells. 査読有. Neuropathology. 2014;34(2):201-209

- DOI: 10.1111/neup.12078
9. Sato I, Higuchi A, Yanagisawa T, Mukasa A, Ida K, Sawamura Y, Sugiyama K, Saito N, Kumabe T, Terasaki M, Nishikawa R, Ishida Y, Kamibeppu K: Cancer-specific health-related quality of life in children with brain tumors. 査読有. Quality of Life Research. 2014;23(4):1059-1068
DOI: 10.1007/s11136-013-0555-x
 10. Sugita Y, Terasaki M, Nakashima S, Ohshima K, Morioka M, Abe H: Intraoperative rapid diagnosis of primary central nervous system lymphomas: advantages and pitfalls. 査読有. Neuropathology. 2014;34(5):438-445
DOI: 10.1111/neup.12126
 11. Sato I, Higuchi A, Yanagisawa T, Murayama S, Kumabe T, Sugiyama K, Mukasa A, Saito N, Sawamura Y, Terasaki M, Shibui S, Takahashi J, Nishikawa R, Ishida Y, Kamibeppu K: Impact of late effects on health-related quality of life in survivors of pediatric brain tumors: motility disturbance of limb(s), seizure, ocular/visual impairment, endocrine abnormality, and higher brain dysfunction. 査読有. Cancer Nursing. 2014;37(6):E1-E14
DOI:10.1097/NCC.0000000000000110
 12. 寺崎瑞彦, 森岡基浩: 悪性脳腫瘍の治療 - 最新のトピックス 脳腫瘍の最新治療法 免疫療法(ワクチン). 査読有. Clinical Neuroscience 2013;31(10):1190-1193
 13. Sugita Y, Nakashima S, Ohshima K, Terasaki M, Morioka M: Anaplastic astrocytomas with abundant Rosenthal fibers in elderly patients: a diagnostic pitfall of high-grade gliomas. 査読有. Neuropathology. 2013;33(5):533-540
DOI: 10.1111/neup.12025
 14. Sugita Y, Nakashima S, Nakamura Y, Ohshima K, Terasaki M, Maruiwa H: Recurrent left frontal lobe cystic tumor in a 49-year-old woman. 査読有. Neuropathology. 2013;33(6):678-681
DOI:10.1111/neup.12011
- [学会発表](計15件)
1. 竹重暢之、長田優衣、江藤朋子、内門久明、寺崎瑞彦、森岡基浩: 長期的に脳室外ドレナージを施行した小児例の検討. 第27回石打カンファレンス 2016.3.4-6(おかやま・妙高)
 2. 竹重暢之、長田優衣、坂田清彦、内門久明、寺崎瑞彦、森岡基浩: 長期的に脳室外ドレナージを施行した小児例の検討. 第74回日本脳神経外科学会総会 2015.10.14-16(札幌・札幌)
 3. Sakata K, Takeshige N, Nakashima S, Terasaki M, Morioka M: Long-term outcome and predictive prognostic factors of Atypical/Anaplastic meningiomas. 15th Interim Meeting of the World Federation of Neurosurgical Societies 2015.9.8-12(ローマ・イタリア)
 4. 古賀誉久、中島慎治、杉田保雄、牟田紘子、大島孝一、長田優衣、寺崎瑞彦、森岡基浩: 非典型的な画像所見と臨床経過を示した gliosarcoma の一例. 第33回日本脳腫瘍病理学会 2015.5.29-30(JR ホテルクレメント高松・高松)
 5. 寺崎瑞彦、森岡基浩、西川 亮、藤巻高光、成田善孝、杉山一彦、栗栖 薫、山崎文之、青木友和、出口 誠、安部 洋、井上 亨、竹島秀雄、富永悌二、園田順彦、小林浩之、田宮 隆、三宅啓介、永根基雄、小林啓一、廣瀬雄一、伊達 勲、市川智継、黒住和彦、上羽哲也、隈部俊宏、荒川芳輝、角間辰之、杉田保雄、伊東恭悟: HLA-A24 陽性標準治療抵抗性神経膠芽腫に対するペプチドワクチン多施設共同無作為第 相比較試験(医師主導治験). 第32回日本脳腫瘍学会 2014.11.30-12.2(セラトングランドトーキョーベイホテル・浦安)
 6. 寺崎瑞彦: 脳腫瘍の薬物療法~臨床試験からワクチン療法まで~.(基調講演) もっと知ってほしい脳腫瘍のこと 2014 in 東京 2014.7.26(秋葉原 UDX シアター・東京)

7. 寺崎瑞彦: もっと知ってほしい「脳腫瘍」のこと .(パネリスト) もっと知ってほしい脳腫瘍のこと 2014 in 東京 2014.7.26 (秋葉原 UDX シアター・東京)
8. 寺崎瑞彦: 脳腫瘍に対するがんワクチン療法 .「がんを制する」~新しい医療~ 久留米大学市民公開講座 2014.7.13 (長崎県医師会館講堂・長崎)
9. 寺崎瑞彦: ギリアデル脳内留置用剤 - 画像診断と手技の工夫 - . Gliadel Expert Meeting in Hiroshima 2014 2014.7.3 (広島大学病院・広島)
10. 杉田保雄、寺崎瑞彦、中島慎治、大島孝一、森岡基浩: 中枢神経系原発悪性リンパ腫における免疫回避機構: ケモカイン CXCL12, CXCL13 と腫瘍浸潤 T リンパ球の役割 . 第 32 回日本脳腫瘍病理学会 2014.5.23-24 (あわぎんホール・徳島)
11. 寺崎瑞彦: ギリアデル脳内留置用剤 - 画像診断と手技の工夫 - . (教育講演) Gliadel 1st Anniversary Meeting 2014.3.28 (ホテル日航福岡・福岡)
12. 寺崎瑞彦、森岡基浩、西川 亮、藤巻高光、成田善孝、杉山一彦、栗栖 薫、青木友和、永根基雄、廣瀬雄一、井上 亨、竹島秀雄、富永悌二、伊達 勲、隈部俊宏、伊東恭悟: HLA-A24 陽性標準治療抵抗性神経膠芽腫に対するペプチドワクチン多施設共同無作為第 相比較試験 (医師主導治験).(シンポジウム)第 72 回日本脳神経外科学会総会 2013.10.16-18 (パシフィコ横浜・横浜)
13. 宮武伸一、荒川芳輝、三輪和弘、隈部俊宏、坪井康次、井内俊彦、寺坂俊介、田部井勇助、中村英夫、永根基雄、杉山一彦、寺崎瑞彦、阿部竜也、成田善孝、武笠晃丈、別府高明: 薬事承認を目指した多施設共同研究、第 3 項先進医療「症候性脳放射線壊死の核医学的診断とベバシズマブの静脈投与による治療 .(シンポジウム)第 72 回日本脳神経外科学会総会 2013.10.16-18 (パシフィコ横浜・横浜)
14. 寺崎瑞彦、森岡基浩、西川 亮、藤巻高光、成田善孝、杉山一彦: 再発グリオブラストーマに対する治療 - 新潮流の中におけるテーラーメイドペプチドワクチン療法の意義 - .(シンポジウム)第

18 回日本脳腫瘍の外科学会
2013.9.19-20 (大津プリンスホテル・大津)

15. 寺崎瑞彦: がんワクチンはどこまで効くのか? がんワクチン臨床試験の成績 脳腫瘍 .(パネル討論) 久留米大学先端癌治療研究センター 市民公開講座「がんを生きる」 2013.7.13 (イムズホール・福岡)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

寺崎 瑞彦 (TERASAKI Mizuhiko)
久留米大学・医学部・准教授
研究者番号: 70320223

(2)研究分担者

杉田 保雄 (SUGITA Yasuo)
久留米大学・医学部・教授
研究者番号: 80216316