

平成 21 年 5 月 12 日現在

研究種目：基盤研究（C）
 研究期間：2007 ～ 2008
 課題番号：19591536
 研究課題名（和文） 樹状細胞による自己癌標的免疫療法を増強させる、各種抗癌剤の適量に関する検討
 研究課題名（英文） Study of the optimal dose of some chemotherapeutic drugs for enhancement of cancer specific immunotherapy by dendritic cell
 研究代表者
 氏名（ローマ字）：高橋 豊（TAKAHASHI YUTAKA）
 所属機関・部局・職：千葉大学・大学院医学研究院・客員教授
 研究者番号：10179541

研究成果の概要：樹状細胞を用いた癌特異免疫療法において、併用する各種抗癌剤の適量について検討した。その結果、抗癌剤単独では最も効果が高いとされている MTD (maximum tolerated dose) よりも低い濃度で、併用効果が高いことが判明した。またその時のマウスの骨髄抑制を検討したところ、軽度から中等度であった。以上から、樹状細胞療法と抗癌剤の併用を臨床応用する場合は、軽度の骨髄抑制を指標として抗癌剤の量を調節することが重要であることが示唆された。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,900,000	570,000	2,470,000
2008 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

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：胃十二指腸外科学

1. 研究開始当初の背景

樹状細胞 (dendritic cell: DC) を用いた免疫療法は、これまでの非特異的な免疫療法と異なり、自己の癌を認識し、それを標的とする特異的な免疫療法であり、癌の免疫療法として大きな期待が寄せられている。実際、欧米では臨床試験も進んでいる。しかしまだまだ解決すべき点も多いのも事実である。中で

も自己の癌の認識、すなわち抗原認識力が充分ではないことが重要な問題である。

これについては、低用量の抗癌剤により癌の一部を細胞死させることにより、DC の成熟化、抗原呈示力が高まることを報告してきた (J Immunother 27, 2004)。

一方、低用量の抗癌剤治療は、我々が提唱した Tumor dormancy therapy (J Natl Cancer

Inst 87, 1995)や、近年欧米において報告された血管新生抑制効果を有する**メトロノミック化学療法**として新たな展開を見せていることから、DCによる特異免疫療法の併用治療として大いに期待されると考えられる。

しかし、抗癌剤はその主作用として、骨髄抑制ひいては免疫抑制を有することから、各種抗癌剤の低用量としての「**適量**」を用いることが重要である。さらに、最近明らかにされてきた遺伝子薬理学から、適量の個人差も5-50倍異なるとされており、実際の臨床応用において個々の「**適量**」を併用することは極めて困難な問題と考えられる。

2. 研究の目的

今回、我々はこのDC療法に併用する各種抗癌剤の「**適量**」を、個々の患者への応用を念頭においた方法として、マウスの骨髄抑制の程度を指標として求める方法を考案した。つまり、マウス実験において、特異免疫療法としてのDC療法を最も高める各種抗癌剤の濃度を求めると同時に、その濃度でのマウスの骨髄抑制の程度を求めたい。これによって、DC療法を増強する抗癌剤の濃度とその濃度での骨髄抑制の程度が判明することになる。次に、臨床応用として、マウスから得られた情報をヒトに応用し、ヒトの骨髄抑制を指標に各種の抗癌剤を併用し、その効果を検討したい。さらに、これらの個々の「**適量**」が、各種薬剤の代謝酵素やその遺伝子多型などから予想可能かついても同時に検討したい。

3. 研究の方法

抗癌剤としては、固形癌に頻用されているCPT-11, Paclitaxel, Docetaxel, CDDPなどを使用し、それぞれの5-6種類の濃度におい

て、最もDC療法の効果を高める濃度を明らかにする。またそれぞれの濃度における、マウスの白血球、好中球、リンパ球などを測定し、抑制程度を検討し、それらを明らかにする。我々のiMRD時の骨髄抑制はグレード1あるいは2、またメトロノミック化学療法における血管新生を抑制するoptimal doseの骨髄抑制も軽度と報告されている。今回のDC療法を高める濃度が、これらと一致するのか異なるのかを明らかにしたい。

これらの成績を元にDC療法と個々の「**適量**」の抗癌剤治療を検討する。個々の「**適量**」はマウス実験で求められた骨髄抑制を指標に求める。この時、薬剤の血中濃度、薬剤の代謝酵素の濃度、活性、さらにはその遺伝子多型を検討し、その関連を求める。

4. 研究成果

まず樹状細胞(dendritic cell: DC)と抗癌剤の濃度別にみた、併用効果について検討した。同系線維肉腫細胞Meth-A移植したBALB/cマウス、および同系扁平上皮癌細胞SCCVII移植したC3H/HeNマウスを用い、種々の抗癌剤をそれぞれの薬剤のMTD (maximum tolerated dose)を最高値にして、4-5段階の濃度を設定し、腫瘍移植後7日目から、週3回、1週間投与した。また腫瘍移植後14日目に、同系マウス骨髄細胞をGM-CSF及びIL-4存在下に6日間培養することにより誘導したiDC(1×10^6)を右側腫瘍内に投与、さらに6時間後に、DCを成熟させるためのOK-432(100 μ g)を右側腫瘍内に投与した。

その結果、CPT-11, DocetaxelのMTD量では、併用効果は認められなかったが、1/2MTD量と1/4MTD量との併用で、抗腫瘍効果に相乗効果が認められた。マウスにおいても、体重減少などは認められなかった。

さらに、それらの腫瘍においては、有意な腫瘍浸潤リンパ球の細胞障害活性、血清中のTh1/Th2サイトカイン比の上昇が認められた。また腫瘍の組織において、DCおよびマクロファージの浸潤も認められた。

マウスの白血球を検討したところ、無治療時6000-7000/μlであったが、MTD量では1000-2000/μlまで下降したのに対し、1/2MTD量と1/4MTD量では3000-4000/μl程度であった。また、1/2MTD量と1/4MTD量では体重減少など、他の全身的問題点も指摘されなかった。さらに、血清中のTh1/Th2サイトカイン比は、MTD量では無治療時よりも下がっていたのに対し、1/2MTD量と1/4MTD量では、逆に上昇が認められた。これらの結果は、今回加えたCDDPにおいても同様な結果が得られ、多くの抗癌剤で適応があると考えられた。

以上より、1/2MTD量と1/4MTD量におけるマウスでの白血球減少は、ヒトの毒性評価で見るとグレード1程度であることから、白血球減少を指標として、ヒトでの樹状細胞療法の併用に適した抗癌剤治療を予測することが可能であると考えられた。標準療法から離脱した患者の治療としては、毒性も少ないことから意義のある治療になりうるものと考えられる。

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. Yamashita K, Nakazato H, Ito K, Ougolkov AV, Kitakata H, Yasumoto K, Omote K, Mai M, Takahashi Y, Minamoto T. Adjuvant Immunotherapy with Protein-bound Polysaccharide K for Colon Cancer in Relation to Oncogenic beta-catenin

Activation. Diseases of Colon and Rectum 50: 1182-1187, 2007.(査読有り)

2. Shakoori A, Mai W Miyashita K, Yasumoto K, Takahashi Y, Ooi A, Kawakami K, Minamoto T. Inhibition of GSK3|*beta*| activity attenuates proliferation of human colon cancer cells in rodents. Cancer Science 98: 1388-1393, 2007. (査読有り)

3. Kitakata H, Yasumoto K, Sudo Y, Minato H, Takahashi Y. A case of primary small cell carcinoma of the breast. Breast Cancer, 14; 414-419, 2007. (査読有り)

4. Takahashi Y and Nishioka K. *In vivo* combination therapy of anti-VEGF antibody and DFMO on VEGF-dependent and -independent tumors: Significance of the combination in VEGF-targeted and -non-targeted anti-angiogenesis therapy Recent advance of metastatic gastrointestinal cancers, in press. (査読有り)

[学会発表](計1件)

1. Takahashi Y, et al. RANDOMIZED PHASE II CLINICAL TRIAL OF TAILORED IRINOTECAN (CPT-11) PLUS S-1 VERSUS S-1 IN PATIENTS WITH ADVANCED OR RECURRENT GASTRIC CARCINOMA AS THE FIRST-LINE CHEMOTHERAPY. ESMO 2008, Stockholm, Sweden.

〔図書〕(計1件)

1. 高橋 豊、IJ Fidler. ヒト胃癌の同所性移植および経門脈(経脾)による肝転移モデル(ヌードマウス), がん転移研究の実験手法, 金芳堂、p24-28, 2008.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 豊 (TAKAHASHI YUTAKA)
千葉大学・大学院医学研究院・客員教授
研究者番号:10179541

(2) 研究分担者

岡本 正人 (OKAMOTO MASATO)
武蔵野大学・附置研究所・客員教授
研究者番号:10243718

源 利成 (MINAMOTO TOSHINARI)
金沢大学・がん研究所・教授
研究者番号:50239323

(3) 連携研究者

岡本 正人 (OKAMOTO MASATO)
武蔵野大学・附置研究所・客員教授
研究者番号:10243718

源 利成 (MINAMOTO TOSHINARI)
金沢大学・がん研究所・教授
研究者番号:50239323