

令和 4 年 6 月 16 日現在

機関番号：32651

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K08383

研究課題名(和文) 膵癌微小環境における個別化免疫解析に基づく複合的免疫化学療法の開発

研究課題名(英文) Development of combined immunochemotherapy based on personalized immunological analysis in the pancreatic tumor microenvironments

研究代表者

小井戸 薫雄 (Koido, Shigeo)

東京慈恵会医科大学・医学部・教授

研究者番号：70266617

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：WT1を標的とした新規樹状細胞ワクチンを併用した標準化学療法(GN療法)に関する臨床試験を実施した。進行膵臓癌に対して、WT1特異的CD4およびCD8T細胞を刺激することができるNeo-WT1ペプチドカクテルを同定し、Neo-WT1ペプチドカクテルをパルスした樹状細胞ワクチン療法(Neo-WT1-DC)を開発した。

ネオアンチゲンを標的とした樹状細胞ワクチンを併用した標準化学療法に関する臨床試験を実施した。他臓器転移を伴う進行膵臓癌に対して、リキッドバイオプシーにてneoantigenを同定後、候補ペプチドを合成し樹状細胞にパルスした樹状細胞ワクチン(neoantigen-DC)を開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

(1) Neo-WT1-DC併用GN療法に関する臨床試験を予定通り全例安全に治療を遂行することができた。治療の結果、RECIST判定でPR7例、SD3例であった。さらに、腫瘍縮小を認めた7例は、手術が可能となった。
(2) neoantigen-DCワクチン併用GN療法を2例実施した。RECIST判定で全例SDであった。尚、治療を実施した1例は、遅延型過敏反応が陽性となった。
以上の新規治療法は、化学療法と併用することで治療効果が増強する可能性が期待された。安全で有効な治療法の開発は社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：(1) Clinical trial on standard chemotherapy combined with a novel WT1-pulsed dendritic cell vaccine was conducted. We identified a Neo-WT1 peptide cocktail that can stimulate WT1-specific CD4 and CD8 T cells for advanced pancreatic cancer, and developed dendritic cell vaccines therapy (Neo-WT1-DC) pulsed with the Neo-WT1 peptide cocktail.

(2) Clinical trial on standard chemotherapy combined with dendritic cell vaccine targeting neoantigen. After identifying neoantigen by liquid biopsy for advanced pancreatic cancer with metastasis, we developed dendritic cell vaccines (neoantigen-DC) in which candidate peptides were synthesized and pulsed to dendritic cells.

研究分野：消化器内科

キーワード：WT1 樹状細胞ワクチン 進行膵臓癌 免疫化学療法 ネオアンチゲン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1)切除不能進行膵臓癌を対象とし、ウィルス腫瘍抗原(WT1)を標的としたペプチドワクチンと樹状細胞ワクチンの臨床試験を以前実施してきた(*J Immunother* 2014, *Cancer Immunol Res* 2018, *Clin Cancer Res* 2014)。その結果、downstaging 後に外科的切除が可能となった症例を1例経験した。その症例は、膵臓癌局所に WT1 特異的細胞障害性 T 細胞 (CTL) の集簇が認められた。また、末梢血に PD-1 低発現 WT1 特異的メモリー T 細胞が治療前より治療後にかけて継続して認められた症例は、WT1 ワクチンによる治療相乗効果が認められた。しかし、conversion surgery が施行できた症例は1例のみであったため、膵臓癌微小環境における免疫プロファイルを、評価することが出来なかった。

(2)外科切除された切除可能膵臓癌症例を 85 例解析した結果、膵臓癌微小環境に T 細胞 (CD3, CD4, CD8) が高密度に浸潤している場合は、生命予後が良いことを報告した。しかし、T 細胞が高密度に浸潤していても、Foxp3 陽性のリンパ球の集積や PD-L1 高発現癌細胞が存在している場合は、生命予後が不良であった(*BMC cancer* 21:1197 2021 報告)。

(3)PD-1 抗体などの免疫チェックポイント阻害剤は、腫瘍縮小効果が長期に及び継続することから有効な治療戦略である。しかし、膵臓癌の多くは、免疫チェックポイント阻害剤の有効性が認められないのが現状である。その理由として、進行膵臓癌は膵臓癌微小環境に活性化した T 細胞 (CD3, CD4, CD8) の集積が少ないことが考えられる。したがって、癌ワクチンにて、癌微小環境に T 細胞を集積することができれば、免疫チェックポイント阻害剤の効果が期待される。

2. 研究の目的

(1)腫瘍微小環境への細胞障害性 T 細胞(CTL)を効率よく誘導できる新規癌ワクチン療法の開発を目指し、臨床試験を開発・実施する。

(2)臨床試験を通して治療効果が得られた症例に関して、膵臓癌微小環境の免疫状況を評価する。また、末梢血サンプルを用いて、免疫モニタリング解析を実施し、治療効果と関連するマーカーを探索する。

3. 研究の方法

腫瘍抗原特異的 CTL の誘導を目指した新規臨床試験を開発・実施する。

(1) Neo-WT1 ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの開発

これまでの臨床試験で用いた WT1 ペプチドよりも、更に効率よく WT1 特異的 CD4 および CD8T 細胞を誘導できる新規 WT1 ペプチドカクテル (Neo-WT1) を開発する。

Neo-WT1 をパルスした樹状細胞ワクチン (Neo-WT1-DC) の作製方法を開発する。

切除不能進行膵臓癌に対して、標準化学療法(gemcitabine/nab-paclitaxel (GN 療法))を併用した Neo-WT1-DC の第 相臨床試験を 10 例実施する。

GN 療法併用 Neo-WT1-DC にて、conversion surgery が可能であった膵臓癌に関して、膵臓

癌微小環境の免疫状況として、CD3, CD4, CD8, Foxp3, PD-L1, PD-1, CD163, CD66b, MHC class I, 腫瘍抗原(WT1 など)について免疫組織化学的に総合評価する。
治療前後の末梢血サンプルを用いて網羅的に免疫誘導に関して解析し、免疫状況を評価する。

(2) neoantigen パルス樹状細胞ワクチンの開発

血漿を用いて血中に循環している neoantigen DNA を同定する(リキッドバイオプシー)。その後、HLA に親和性の高いペプチド(neoantigen ペプチド)をデザインし合成する。4 種類の neoantigen ペプチドを樹状細胞にパルスした neoantigen 樹状細胞ワクチン(neoantigen-DC)の作製方向を確立する。

転移のある切除不能進行膵臓癌 10 例に対して、標準化学療法(GN 療法)を併用した neoantigen-DC の第 相臨床試験を実施する。

治療前後の末梢血サンプルを用いて網羅的に免疫誘導を解析し、免疫状況を評価する。

4. 研究成果

(1) Neo-WT1 ペプチドパルス樹状細胞ワクチン

Neo-WT1 ペプチドカクテルの評価

WT1特異的ヘルパーペプチド(WAPVLDFAAPPASAYGSL)は、これまで臨床試験で使用したことがないペプチドである。このヘルパーペプチドは効率よくWT1特異的CD4T細胞を刺激することが可能であった。また、CD4だけでなくHLA-A*02:01またはHLA-A*02:06拘束性のWT1特異的CD8T細胞を誘導することが可能であった。このWT1特異的ヘルパーペプチドとHLA-A*24:02拘束性のWT1特異的キラーペプチド(CYTWNQMNL)をミックスしたNeo-WT1ペプチドカクテルは様々な癌に対して、in vitroで効率よくWT1特異的CD4T細胞およびCD8 T細胞を刺激することが可能であった(Int J Oncol 57: 1047-1056, 2020報告)。

Neo-WT1-DCの標準作業手順書(SOP)の作製

Neo-WT1ペプチドカクテルを成熟樹状細胞にパルスし凍結保存する方法を確立した(Pharmaceutics. 28;12(4):305 2020報告)。

臨床試験の実施

- 切除不能進行膵臓癌10例に対して、GN療法を併用したNeo-WT1-DC療法の第 相臨床試験を実施した。目標エントリー全例に対して安全に治療を実施することが可能であった。
- 治療の結果、RECIST判定でPR7例、SD3例であった。
- 治療前後で、18F-FDG PET/CTを比較した結果、Maximum standardized uptake value (SUVmax)は有意に低下した。
- 治療前後で、liquid biopsyを実施した。Stage IIIでは治療前から血中循環腫瘍DNA(ctDNA)は認められなかった。Stage IVは3例において治療前からctDNAは認められたが、治療後有意にctDNAのmutant allele frequency(MFA)は低下した。
- 10例中7例に関しては腫瘍縮小を認めた結果、conversion surgeryが可能となった。Conversion surgeryが実施できた7例の手術標本を免疫組織化学的に解析した結果、リンパ球(CD3, CD4, CD8)の高集簇、PD-L1低発現癌細胞、PD1発現リンパ節、Foxp3の低発現などの特徴を有していた症例は、生命予後が良好であった。術後経過が良い症例は、この傾向が特に強く認められた。
- WT1ペプチドに対する遅延型過敏反応(DTH)が強陽性の症例は、DTHが陰性の症例と比較

し、無増悪生存期間(PFS)が有意に延長していた。

- 治療後、WT1特異的DTHが持続して陽性の症例は、陰性の症例と比較し血清IL-6のレベルが有意に低値であった。
- 免疫モニタリングを更に詳細に実施するため、末梢血単核球、血清、血漿などのサンプルを用いて免疫モニタリングの解析中である。

(2) neoantigen パルス樹状細胞ワクチン

neoantigen の同定法の確立

- 膵臓癌は癌組織を多く採取することが困難である。そこで、血漿から血中循環腫瘍 DNA (ctDNA) から、neoantigen の同定を試みた。Neoantigen の同定に関しては、次世代シーケンサー技術を用いて委託検査にて実施した。その結果、検査した Stage III の膵臓癌では7例全員に関して、neoantigen を同定することができなかった。一方、Stage IV で転移を伴う膵臓癌 6 例に関しては全例 neoantigen を同定することが可能であった。
- NetMHC 4.0 Server および IEDB MHC-I Binding Predictions 解析にて HLA に親和性のある neoantigen ペプチドを同定した。

Neoantigen-DCの標準作業手順書 (SOP) の作製

HLAに親和性の高いneoantigenペプチドを4種類選定し、成熟樹状細胞にパルスして neoantigen-DCを安定して作成することが可能となった。

臨床試験の実施

- 他臓器転移を伴う膵臓癌2例に対して、GN療法を併用したneoantigen-DC療法の第 相臨床試験を2例安全に実施した。目標エントリーは10例であり、今後もエントリーを継続する。
- 治療の結果、RECIST判定で全例がSDであった。さらに、1例に関してはneoantigenペプチド特異的遅延型過敏反応(DTH)が陽性となった。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Kiryu Sachie, Ito Zensho, Suka Machi, Bito Tsuuse, Kan Shin, Uchiyama Kan, Saruta Masayuki, Hata Taigo, Takano Yuki, Fujioka Shuichi, Misawa Takeyuki, Yamauchi Takashi, Yanagisawa Hiroyuki, Sato Nobuhiro, Ohkusa Toshifumi, Sugiyama Haruo, Koido Shigeo	4. 巻 21
2. 論文標題 Prognostic value of immune factors in the tumor microenvironment of patients with pancreatic ductal adenocarcinoma	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 BMC Cancer	6. 最初と最後の頁 1197
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12885-021-08911-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kan Shin, Bito Tsuuse, Shimabuku Masamori, Taguchi Junichi, Ohkusa Toshifumi?, Shimodaira Shigetaka, Sugiyama Haruo, Koido Shigeo	4. 巻 57
2. 論文標題 Impact of mature dendritic cells pulsed with a novel WT1 helper peptide on the induction of HLA?A2?restricted WT1?reactive CD8+ T cells	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 International Journal of Oncology	6. 最初と最後の頁 1047-1056
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3892/ijo.2020.5110	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Koya Terutsugu, Date Ippei, Kawaguchi Haruhiko, Watanabe Asuka, Sakamoto Takuya, Togi Misa, Kato Tomohisa, Yoshida Kenichi, Kojima Shunsuke, Yanagisawa Ryu, Koido Shigeo, Sugiyama Haruo, Shimodaira Shigetaka	4. 巻 12
2. 論文標題 Dendritic Cells Pre-Pulsed with Wilms' Tumor 1 in Optimized Culture for Cancer Vaccination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Pharmaceutics	6. 最初と最後の頁 305 ~ 305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/pharmaceutics12040305	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Shimodaira, Yanagisawa, Koya, Hirabayashi, Higuchi, Sakamoto, Togi, Jr., Kobayashi, Koizumi, Koido, Sugiyama	4. 巻 7
2. 論文標題 In Vivo Administration of Recombinant Human Granulocyte Colony-Stimulating Factor Increases the Immune Effectiveness of Dendritic Cell-Based Cancer Vaccination	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Vaccines	6. 最初と最後の頁 120 ~ 120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/vaccines7030120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Yoshida Sayumi, Ito Zensho, Suka Machi, Bito Tsuuse, Kan Shin, Akasu Takafumi, Saruta Masayuki, Okamoto Masato, Kitamura Hiroaki, Fujioka Shuichi, Misawa Takeyuki, Akiba Tadashi, Yanagisawa Hiroyuki, Sugiyama Haruo, Koido Shigeo	4. 巻 37
2. 論文標題 Clinical Significance of Tumor-Infiltrating T Cells and Programed Death Ligand-1 in Patients with Pancreatic Cancer	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Cancer Investigation	6. 最初と最後の頁 463 ~ 477
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/07357907.2019.1661427	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Ito Zensho, Kan Shin, Bito Tsuuse, Horiuchi Sankichi, Akasu Takafumi, Yoshida Sayumi, Kajihara Mikio, Hokari Atsushi, Saruta Masayuki, Yoshida Noriyuki, Kobayashi Masanori, Ohkusa Toshifumi, Shimodaira Shigetaka, Okamoto Masato, Sugiyama Haruo, Koido Shigeo	4. 巻 97
2. 論文標題 Predicted Markers of Overall Survival in Pancreatic Cancer Patients Receiving Dendritic Cell Vaccinations Targeting WT1	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Oncology	6. 最初と最後の頁 135 ~ 148
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1159/000500359	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 小井戸薫雄
2. 発表標題 膵癌局所の微少環境と生命予後に関する臨床的検討
3. 学会等名 第8回 日本免疫・細胞治療学会 学術総会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤正紀、小井戸薫雄、芝清隆
2. 発表標題 人工抗原ワクチンを用いたWilms tumor 1 (WT1)特異的細胞傷害性T細胞の誘導
3. 学会等名 第78回日本癌学会学術総会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担 者	伊藤 正紀 (Ito Masaki) (80297366)	東京慈恵会医科大学・医学部・講師 (32651)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------