

機関番号：12601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20591623

研究課題名（和文） 化学療法と免疫細胞治療の併用による膵癌術後補助療法の安全性および有効性の評価

研究課題名（英文） Combination adjuvant therapy using chemotherapy and immunotherapy for pancreatic cancer: assessment of safety and efficacy.

研究代表者

青木 琢 (AOKI TAKU)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30302722

研究成果の概要（和文）：膵癌治療切除後症例を対象として、Gemcitabine (GEM)を用いた全身化学療法に、自己活性化 $\gamma\delta$ T細胞を用いた免疫療法を加えた補助療法を施行した。研究期間中に22名のエントリーがあり、最終的に施行可能症例は11例であった。安全性は確認されたが、無再発期間はGEM単独治療と差はなく、さらなるフォローアップが必要である。

研究成果の概要（英文）：An adjuvant therapy using combination of Gemcitabine and auto $\gamma\delta$ T lymphocyte immunotherapy was conducted for postoperative patients with pancreatic cancer. Twenty-two patients were enrolled and actually 11 patients received the combination therapy. The safety of the therapy was confirmed, but the benefit for disease-free survival was unclear. Further follow-up will be needed.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
2010年度	1,000,000	300,000	1,300,000
年度			
年度			
総計	3,000,000	900,000	3,900,000

研究分野：肝胆膵外科学

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：膵臓外科学、化学療法、免疫療法

1. 研究開始当初の背景

(1) 膵癌の疫学、治療

膵癌は、進行が早く、近年の画像検査等の診断技術・治療技術の発展にもかかわらず、早期発見が困難とされ、最も難治性の高い癌の一つに挙げられる。本邦での膵癌による死亡患者数は、2003年には約21,100人とされ、これは、癌による死因の6.8%に当たり、第5位に位置する。膵癌は早期発見が難しく、予後は極めて不良であり、5年生存率は全体の5.5%と推定されている。

膵癌の治療法は主なものとして手術、放射

線療法、化学療法があり、進行度と全身状態に応じて決定される。手術は、遠隔転移を認めず原発巣を完全に切除できる場合に施行される。手術による膵癌の治療は、現在、治療及び長期生存が期待できる唯一の治療法とされているが、手術が行われても術後早期に再発、転移する症例が多く、術後の5年生存率は一般的には10～20%程度とされており、他の癌種に比しても全体的にはその予後は不良である。その要因として、術後の血行性転移が高率に見られることが挙げられる。なかでも肝転移が多く、少なくとも半数以上の

症例で発症する。

(2) ゲムシタビン (GEM) と GEM を用いた膵癌術後補助化学療法の現状

GEMは2001年に膵癌の適応を取得した代謝拮抗剤であり、同じ代謝拮抗剤であるフルオロウラシルに対し、有意な生存期間の延長と症状緩和効果が認められ、現在、切除不能進行膵癌における第一選択薬となっている。しかし、化学療法初回治療患者を対象とした第3相臨床試験において、ゲムシタビン投与群の1年生存率は18%、生存期間中央値は5.7ヶ月であり、満足いくものではない。

膵癌の予後は治癒切除(R0 resection)が行われた場合でも術後5年生存率が20-25%と低く、再発抑制のための術後補助療法が強く求められてきた。1980年代以降、5FUを中心とした補助療法が試みられてきたものの、十分な成果は得られなかったが、1997年Burrisらが切除不能膵癌に対するGemcitabine(GEM)の化学療法が5FUと比較し有意に予後、症状を改善したとの報告を行って以来、同剤が非切除膵癌治療のfirst lineとなった。同時に、術後補助化学療法としてのGEMの効果を評価するstudyも試みられ、2007年1月に発表されたRCTでは、有意な再発抑制効果が認められており、今後GEMによる補助療法が標準治療として位置づけられると考えられる。

当科でも2003年以降、膵癌術後症例の原則全例にGEMによる補助化学療法(1年間)を行っており、術後1, 2年のdisease-free survivalは65%, 53%であった。手術のみのhistorical controlの1, 2年のdisease-free survivalは37%, 34%であり、GEMの再発抑制効果が示唆される。

(3) 活性化自己 $\gamma\delta$ T細胞療法4)

T細胞は、T細胞受容体の発現の仕方により2種のサブセットに分類される。大半は $\alpha\beta$ T細胞受容体ヘテロ二量体を発現する $\alpha\beta$ T細胞であり、癌免疫においても、MHCクラスI(CD8陽性T細胞)もしくはMHCクラスII(CD4陽性T細胞)に提示される抗原ペプチドを認識するMHC拘束性 $\alpha\beta$ T細胞が、抗腫瘍効果を示していると考えられてきた。しかし、最近、CD3関連 $\gamma\delta$ ヘテロ二量体からなるT細胞受容体発現T細胞($\gamma\delta$ T細胞)が、癌治療において注目を浴びている。

$\gamma\delta$ T細胞は、自らサイトカインを産生し、また抗腫瘍効果を有するサイトカインを産生する細胞を活性化するなど、 $\alpha\beta$ T細胞と似た機能を有しているが、抗原提示細胞のプロセッシングを受けない抗原をMHC非拘束的に認識するなど、 $\alpha\beta$ T細胞と異なる性質も

有している。さらに、 $\gamma\delta$ T細胞は、サイトカインの産生を通して、 $\alpha\beta$ T細胞の反応を直接的あるいは間接的にコントロールするものと考えられている。

ヒト成人の末梢血中の主要な $\gamma\delta$ T細胞であるV γ 9V δ 2T細胞は、T細胞受容体可変領域に特有のV γ 9とV δ 2の組み合わせを持ち、末梢血中の $\gamma\delta$ T細胞の50~95%を占める。V γ 9V δ 2T細胞の表面分子であるNKG2Dは、発癌あるいは感染時に誘導される癌細胞表面分子MICA/BあるいはULBPsに結合し、標的癌細胞の認識及び殺傷に寄与しており、MHC発現を低下もしくは消失して $\alpha\beta$ T細胞による免疫監視機構を回避できた腫瘍に対しても、V γ 9V δ 2T細胞は抗腫瘍活性を発揮することが期待される。

(4) これまでの活性化自己 $\gamma\delta$ T細胞療法の成績

ゾレドロン酸などのビスホスホネート製剤が、*in vitro*においてV γ 9V δ 2T細胞の増殖を誘導する。 $\gamma\delta$ T細胞は多発性骨髄腫に対する細胞傷害活性を示し、抗腫瘍効果を有するサイトカインであるIFN γ を産生することが知られている。Wilhelmらは、低悪性度非ホジキンリンパ腫あるいは多発性骨髄腫患者らにビスホスホネート製剤(パミドロネート)及びIL-2を投与し、 $\gamma\delta$ T細胞の増殖が確認された5例のうち2例においてPR(部分寛解)が得られたと報告している。

また、前治療耐性固形癌患者13例に $\gamma\delta$ T細胞療法を施行したところ、主な有害事象は発熱であり、重篤な有害事象は発生しなかったとの海外報告がある。

2. 研究の目的

膵癌は根治切除が可能であった例でも早期に再発し、その予後はきわめて不良であるため、術後補助療法による予後の改善が期待されている。術後膵癌の予後を向上させるには、局所再発の制御もさることながら、血行性転移の制御に大きな意義があるとされている。術後残存癌病変を除去し、血行性転移を抑制する目的でGEMが術後に使用されているが、予後の改善のためにはGEMを含む併用療法の探索が強く望まれる。化学療法剤であるGEMは独自の殺細胞作用を示すが、癌細胞表面に $\gamma\delta$ T細胞が認識するストレス蛋白(MICA/BやULBPs)の発現をもたらすことが期待され、 $\gamma\delta$ T細胞による腫瘍の認識と抗腫瘍活性を増強することが期待される。更に、GEMには、抑制生T細胞などの癌が誘導する免疫抑制を解除する作用が知られており、免疫細胞治療との組み合わせに適した薬剤と

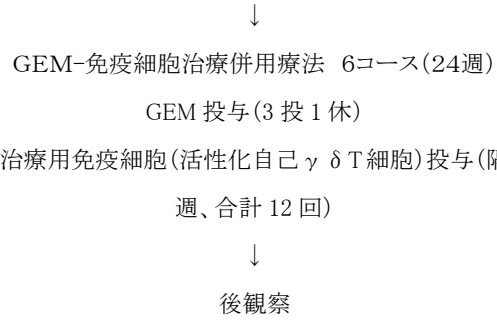
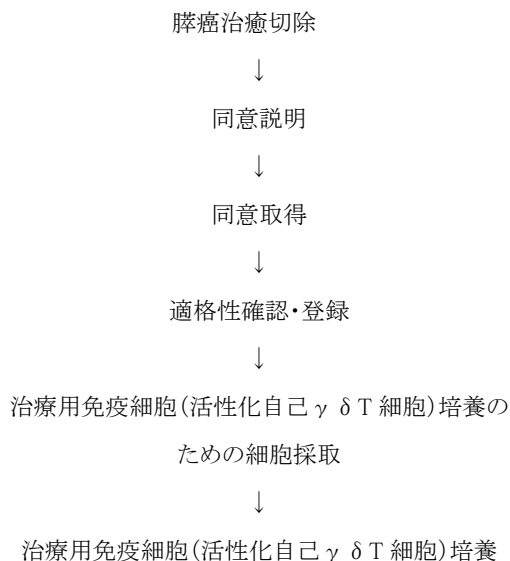
考えられる。

以上のことより、今回、「膵癌治癒切除後補助療法としてのゲムシタビン (GEM) および免疫細胞 (活性化自己 γ δ T 細胞) 併用投与の臨床検討」を計画した。

膵癌治癒切除後例に対して最も標準的な術後化学療法剤である GEM に、活性化自己 γ δ T 細胞を用いた免疫細胞治療を併用する。殺細胞作用のある GEM は、癌細胞表面に γ δ T 細胞が認識するストレス蛋白 (MICA/B や ULBP s) の発現をもたらし、 γ δ T 細胞による腫瘍の認識と抗腫瘍活性を増強することが期待されており、免疫細胞治療との組み合わせに適した薬剤と考えられる。本治療法は、癌細胞に対する作用機序が異なる二つの治療方法を組み合わせた集学的治療により、局所再発および血行性転移の制御を目指す。

3. 研究の方法

単群オープン臨床研究。事前 γ δ T 細胞検査で培養が可能と判断されるなど適格性が確認された被験者を登録する。膵癌治癒切除後、3 週連続投与 1 週休薬 (3 投 1 休) を 1 コースとして Gemcitabine (GEM) を投与する。被験者から成分採血または全血採血により単核球を採取し、ゾメタを用いて γ δ T 細胞を増殖・活性化させる。GEM 投与各コースの 1、3 週目に GEM 投与日から 3 ないし 4 日目に γ δ T 細胞を静脈内投与 (点滴注射) する (全 12 回/6 ヶ月)。最初の 5 例は漸増法 (1・2 回目: 1×10^8 細胞、3 回目以降: 1×10^9 細胞以上) にて投与し、安全性を慎重に確認する。最初の 5 例で安全性が確認されれば、以降の症例では初回から 1×10^9 細胞以上の採取できた全細胞数を投与する。6 ヶ月の併用期間後は GEM 単独投与を継続する。



1回目 (GEM+γδT)		2回目 (GEM+γδT)							3回目 (GEM+γδT)			4回目 (GEM)							
Day		Day							Day			Day							
1	2	3	4-5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18-19	20	21	22/23/24
GEM		2-3 日投	γδT			2-3 日投	GEM						GEM	2-3 日投	γδT		2-3 日投		投与なし

評価項目としては、安全性 (有害事象の種類と程度、発現時期、発現頻度、発現期間、発現率、活性化自己 γ δ T 細胞治療との因果関係) に加え、以下の通り有効性を評価する。主要評価項目: 再発率 (局所再発率 + 他臓器再発率) (1 年および 2 年) 副次的評価項目: 無再発生存期間、全生存期間、生存率 (1 年および 2 年)、腫瘍マーカーの推移、免疫学的反応性など

4. 研究成果

(1) 研究参加患者数

研究期間 3 年間に東京大学医学部附属病院肝胆膵外科にて手術を行った膵癌患者で、かつ適格と考えられる症例に研究の説明を行い、参加希望者数は 22 名 (膵頭十二指腸切除後 15 例、膵体尾部切除後 7 例) であった。 γ δ T 細胞の増殖が十分に得られず、施行不可能な症例が 8 例、補助療法開始前に再発を認めた症例もあり、治療を行ったケースは 11 例に留まった (50% の施行率)。11 例の内訳は、男性 5 名女性 6 名、年齢の中央値は 64.0 歳、膵癌の占拠部位は膵頭部 10 例、膵尾部 1 例であった。膵癌の手術時のステージングは stage III 6 名、IVa 3 名、IVb 2 名であった。

(2) 安全性

11 名全員が、6 クールを完遂できた。有害事象は、GEM との併用療法全体でも非常に軽微で、grade 1 の肝機能障害例のみであった。

(3) 有効性

経過観察期間は、中央値で 11 ヶ月、最長で 33 ヶ月であった。Disease-free survival を GEM+ γ δ T 細胞治療群と、従来の GEM 単剤治療群との間で比較したところ、有意差を認めなかった (図 1)。Overall survival についても同様であった。また、 γ δ T 細胞の増殖が不良であった症例の予後と、GEM+ γ δ T 細胞治療群患者の予後の間にも差は認められなかった (図 3)。

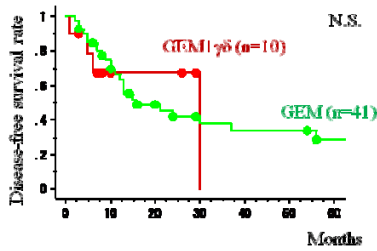


図1 Disease-free survival

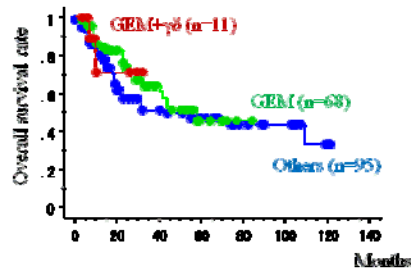


図2 Overall survival

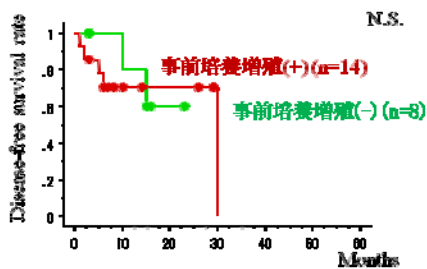


図3 細胞培養の成否と予後の関係

(4) γ δ T細胞の成否に関わる因子

膵癌患者において、 γ δ T細胞の十分な増殖が得られなかった症例が半数あったことから、胆道癌患者と比較したところ、膵癌患者では培養前から γ δ T細胞分画の少ない症例が多く、また、反復投与による体内への蓄積も弱いことが判明した(図4)。

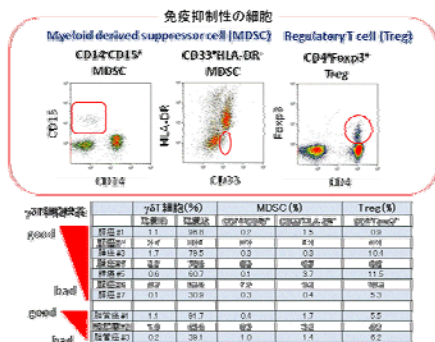


図4 膵癌症例では γ δ T細胞分画の少ない症例が多く、増殖も得にくかった。

以上から、膵癌術後のGEM+ γ δ T細胞治療は安全に施行可能であるものの、GEM単剤治療と比較して、無再発生存率、全生存率への上乗せ効果は証明できなかった。膵癌における免疫療法の効果が少ない原因として、膵癌症例が強い免疫抑制状態に置かれている可能性が示唆され、今後の研究課題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5件)

①Sakamoto M, Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, Yoshida Y, Murayama T, Takamoto S, Matsushita H, Kakimi K. Adoptive immunotherapy for advanced non-small cell lung cancer using zoledronate-expanded γ δ T cells: a phase I clinical study. J Immunother, 査読有, 34(2) 2011, 202-211.

②Nakajima J, Murakawa T, Fukami T, Goto S, Kaneko T, Yoshida Y, Takamoto S, Kakimi K. A phase I study of adoptive immunotherapy for recurrent non-small cell lung cancer patients with autologous gammadelta T cells. Eur j cardiothorac Surg, 査読有, 37(5) 2010, 1191-1197.

③國土典宏. がん特異的免疫療法の将来像. Cancer Review (日経メディカル), 査読無, 8月号 2009, pp. 35.

④Sato K, Kondo M, Sakuta K, Hosoi A, Noji S, Sugiura M, Yoshida Y, Kakimi K. Impact of culture medium on the expansion of T cells for immunotherapy. Cytotherapy, 査読有, Aug 31 2009, 1-11.

⑤Kondo M, Sakuta K, Noguchi A, Ariyoshi N, Sato K, Hosoi A, Nakajima J, Yoshida Y, Shiraishi K, Nakagawa K, Kakimi K. Zoledronate facilitates large-scale ex vivo expansion of functional gammadelta T cells from cancer patients for use in adoptive immunotherapy. Cytotherapy, 査読有, 10(8) 2008, 842-856.

[学会発表] (計4件)

①青木 琢, 垣見和宏, 國土典宏. 膵癌術後補助療法としての全身化学療法・自己 γ δ T細胞免疫治療併用療法. 第97回日本消化器病学会総会, 2011年5月, 東京.

②Kakimi K, et al. Adoptive $\gamma\delta$ T cell transfer for non-small cell lung cancer. AACR 101st Annual Meeting 2010, April 2010, Washington DC, USA.

③垣見和宏, 他. がんに対する免疫細胞治療～がんワクチンと細胞移入療法～. 第19回日本癌病態治療研究会, 2010年6月, 東京.

④垣見和宏, 他. Cell therapy(細胞療法)の新たなアプローチ:ゾレドロン酸を用いて培養した $V\gamma 9V\delta 2$ T細胞による免疫細胞治療. 第13回日本がん免疫学会総会, 2009年6月, 北九州市.

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

青木 琢 (AOKI TAKU)

東京大学・医学部附属病院・講師

研究者番号: 30302722

(2) 研究分担者

長谷川 潔 (HASEGAWA KIYOSHI)

東京大学・医学部附属病院・准教授

研究者番号: 20292906

國土 典宏 (KOKUDO NORIHIRO)

東京大学・医学部附属病院・教授

研究者番号: 00205361

垣見 和宏 (KAKIMI KAZUHIRO)

東京大学・医学部附属病院・特任准教授

研究者番号: 80273358

(3) 連携研究者

()

研究者番号: