

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 10 日現在

機関番号：12501
 研究種目：基盤研究（B）
 研究期間：2009～2011
 課題番号：21390458
 研究課題名：頭頸部癌への細胞免疫治療を用いたアジュバント療法のアプローチ
 研究課題名：Adjuvant cellular immunotherapy for head and neck cancer
 研究代表者 岡本 美孝 (Okamoto Yoshitaka)
 千葉大学・大学院医学研究院・教授
 研究者番号：40169157

研究成果の概要（和文）：

進行頭頸部癌に対する治療成績の向上を目的に、NK T細胞免疫系を利用した細胞免疫治療が標準治療後のアジュバント療法として有効性について検討を進行咽頭癌症例、頭頸部悪性黒色腫症例で標準治療後、あるいは重粒子線治療後に CR と判定された症例に行った。投与は NKT 細胞のリガンドをパルスした抗原提示細胞の鼻粘膜投与方法によりおこなった。経過観察期間が短いが生存率への寄与が期待され、さらに症例の蓄積を続けている。

研究成果の概要（英文）：

In order to improve the prognosis of patients with head and neck cancer, We have conducted clinical studies with α -GalCer-pulsed antigen presenting cells (APCs) administered in the nasal submucosa of patients with advanced pharyngeal cancer after standard therapies or with malignant head and neck melanoma after heavy iron therapy as an adjuvant therapy and evaluated the safety and feasibility of such an adjuvant therapy. Although median follow-up period is only 2 years and it is difficult to say definitive conclusion, overall survival seems to be improved in immunotherapy group with α -GalCer-pulsed APCs. Further studies to certify the clinical benefits are required.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	9,700,000	2,910,000	12,610,000
2010 年度	2,200,000	660,000	2,860,000
2011 年度	2,100,000	630,000	2,730,000
年度			
年度			
総計	14,000,000	4,200,000	18,200,000

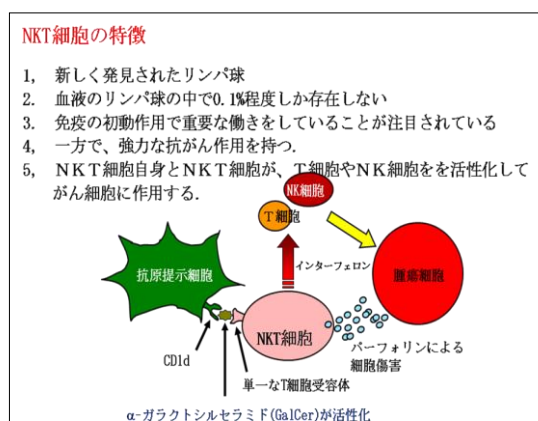
研究分野：耳鼻咽喉科

科研費の分科・細目：腫瘍免疫学

キーワード：(1)頭頸部癌、(2)免疫療法、(3)NKT 細胞、(4)粘膜投与、(5)抗原提示細胞

1. 研究開始当初の背景

- (1) 進行頭頸部癌に対しては、従来から手術、放射線、抗癌剤を様々な組み合わせた治療が行われてきたが、治療後の患者の QOL の障害は強く、一方で予後も依然として不良である。
- (2) 治療成績の改善、患者負担の軽減を目的とした新しい治療戦略が求められている。
- (3) 近年その存在が明らかとされ、自然免疫に大きな役割を果たすNK T細胞免疫系は患者の MHC に規定されずに高い抗腫瘍効果が期待されている。
- (4) 我々は、これまでの検討で鼻粘膜への抗原提示細胞の投与は有効に抗腫瘍免疫応答を引き起こすことを示してきた。



2. 研究の目的

進行頭頸部癌に対して、根治治療後の再発を予防するため NKT 細胞のリガンドである α-ガラクトシルセラミドパルス樹状細胞のアジュバント投与が有効であるかを検討するために 4 期咽頭癌症例を対象に、非処理樹状細胞投与を対照とした比較試験から、また頭頸部悪性黒色腫症例を対象に従来の非免疫治療群との historical control study から臨床効果、免疫系的検討により明らかにする。対象は頭頸部癌の中でも、進行癌が多く、かつ初回治療で CR 後にも遠隔転移が多く、さらに再発の多くが 2 年以内に出現し、そのことから治療の評価がしやすい 4 期咽頭癌ならびに悪性黒色腫とした。

3. 研究の方法

- (1) 咽頭癌第 4 期症例で手術、放射線、化学療法といった標準治療で CR が得られ 2 ヶ月以内の症例を対象に、NKT 細胞のリガンドである α-ガラクトシルセラミドパルス樹状細胞の鼻粘膜下投与が、アジュバント療法

としての有効かどうか非処理樹状細胞投与を対照とした比較試験から明らかにする。

Primary endpoint として無病生存期間、secondary endpoint として、患者の免疫学的反応とする。

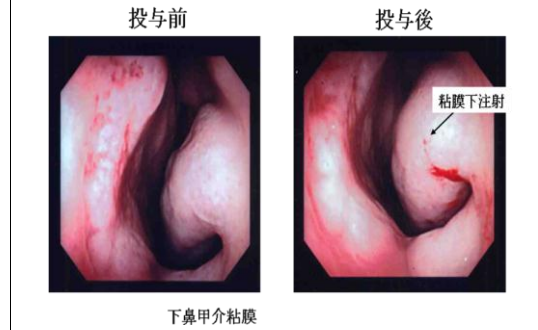
- (2) 頭頸部粘膜悪性黒色腫により重粒子線治療ならびに化学療法併用で CR が得られ 3 カ月以内の症例で、従来の非免疫治療群との historical control study とする。
- (3) 目標症例数は咽頭IV期の 50 症例、悪性黒色腫症例 20 症例とする。咽頭癌については、これまでの phase I、II の試験から免疫治療を加えた患者の 2 年後の無病生存率 75%、標準治療のみの患者の 2 年後の無病生存率を 35% とし、αエラー 0.05、パワーを 0.8 とすると必要症例数は各群 25 例で計 50 例とした。悪性黒色腫に対しては 1 年間の重粒子線治療症例数が約 10~15 症例平均であることから設定した。試験は千葉大学大学院医学研究院倫理委員会に申請し認可を得て、すでに開始されている。α ガラクトシルセラミドは GMP 規格のものをキリンホールディング社から無償提供を受けるが、利益相反にあたらないことはこれまでの試験でも了解されている。また、本臨床試験は、WHO 登録に準じて UMIN へ事前登録して実施されている。

- (4) 咽頭癌症例はランダムに 2 群に分け、100ml の採血後、単核球細胞を回収し、IL-2、GM-CSF 下に AIM-V 培地で培養し、投与前日に α ガラクトシルセラミドを加えて α-ガラクトシルセラミドパルス樹状細胞とする。1×10⁸ 個/0.2ml に調整して患者下鼻甲介粘膜下に両側 0.2ml ずつ 1 週間間隔で 2 回、さらに 1 ヶ月後同様に 2 回投与する。他群には非処理の樹状細胞を同様な細胞数を調整して、同様な投与を行う。悪性黒色腫症例については、α-ガラクトシルセラミドパルス樹状細胞を同様に 1×10⁸ 個/0.2ml に調整して患者下鼻甲介粘膜下に投与する。細胞調整は千葉大学付属病院未来開発センターの専用の GMP 企画の細胞調整室で準備し、患者摂取直前に LPS 濃度の測定を行ない安全性を確認する。投与後 2 年間の無病生存率を primary endpoint とし、3 ヶ月毎の末梢血 NKT 細胞、NK 細胞数、α-ガラクトシル

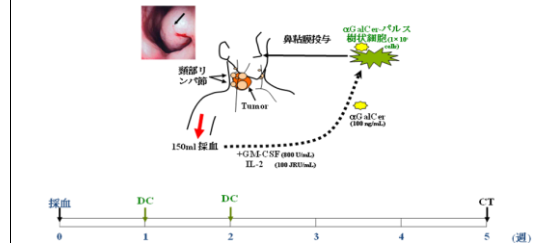
セラミド刺激による IFN- γ 産生量を secondary endpoint として検討する。

- (5) 患者の適格基準としては上記以外に年齢：20～80歳、PS：0～2、検査データとして白血球数 $\geq 3000/\mu\text{l}$ 、血小板 $\geq 75000/\mu\text{l}$ 、血清クレアチニン $\leq 1.5\text{ mg/dl}$ 、ビノルビン $\leq 1.5\text{ mg/dl}$ を満たし、文書で本人から同意が得られているもので、除外基準として肝変の既往があるもの、HB_s抗原、HCV抗体、HIV抗体またはHTLV-1抗体が陽性、自己免疫疾患を有する、重篤な心疾患（NYHA class III以上）を有する場合とし、千葉大学医学部附属病院臨床検査部をデータセンターとする。
- (6) 千葉大学医学部内の細胞治療効果安全性評価委員会にて効果や有害事象発現時の対応はこれまでの試験に沿って行う。

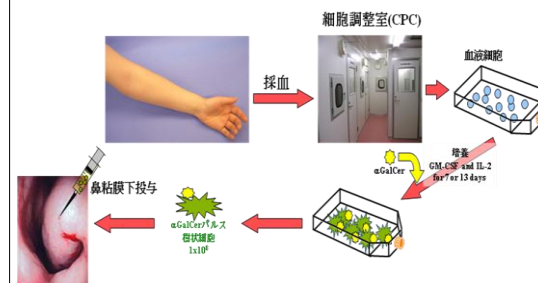
樹状細胞の鼻粘膜内投与



臨床試験計画



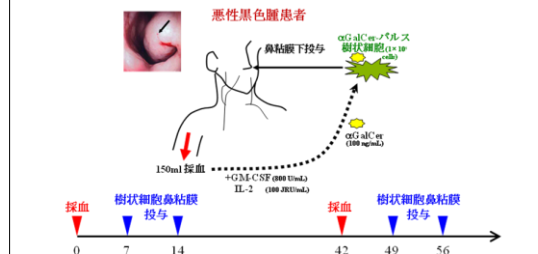
細胞処理



臨床試験デザイン

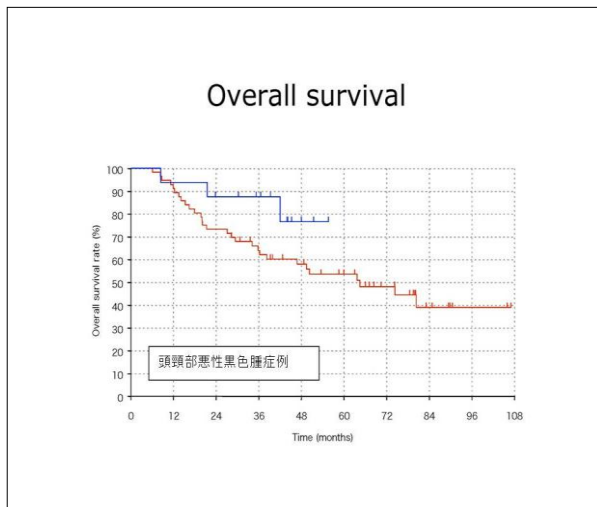
化学療法併用重粒子線治療後のアジュバント治療として
αGalCer-パルス樹状細胞鼻粘膜投与療法

主要エンドポイント：無再発生存率の評価



4. 研究成果

- (1) 試験は千葉大学大学院医学研究院倫理委員会に申請し認可を得て、WHO登録に準じてUMINへ事前登録して開始した。
- (2) 進行IV期咽頭癌症例についてはこれまで25症例に投与が終了し、さらに症例の追加と投与後の経過について検討を進めている。ランダム化試験であることからキーオープンは症例の目標40~50症例終了後に行う。
- (3) 頭頸部粘膜悪性黒色腫症例に対してはこれまで18症例に対して投与が終了し、現在平均24カ月が経過し経過を検討している。いずれも化学療法併用重粒子線治療終了後の症例である。評価機関が十分ではないが、これまでの解析では免疫療法を追加した群で生存率の向上への寄与が認められている。今年度末に最終的な成績を評価する予定である。
- (4) 有害事象としては、発熱を認めたものが2割の症例で認められたが、Grade2以上のものは全く認められなかった。



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7件)

1. Kurosaki, M., Horiguchi, S., Yamasaki, K., Uchida, Y., Motohashi, S., Nakayama, T., Sugimoto, A., Okamoto, Y. Migration and immunological reaction after the administration of α -GalCer-pulsed-antigen-presenting cells into the submucosa of patients with head and neck cancer. *Cancer Immunology and Immunotherapy*. 60: 207-

215, 2011. (査読有)

2. Yamasaki, K., Horiguchi, S., Kurosaki, M., Kumii, N., Nagato, K., Hanaoka, H., Shimizu, N., Ueno, N., Yamamoto, S., Taniguchi, M., Motohashi, S., Nakayama, T., Okamoto, Y. Induction of NKT cell-specific immune responses in cancer tissues after NKT cell-targeted adoptive immunotherapy. *Clinical Immunology*. 138: 255-265, 2011. (査読有)
3. Okamoto, Y., Fujikawa, A., Kurosaki, M., Yamasaki, K., Sakurai, D., Horiguchi, S., Nakayama, T. Nasal submucosal administration of antigen-presenting cells induces effective immunological responses in cancer immunotherapy. *Advances in Oto-Rhino-Laryngology* 72:149-152, 2011. (査読有)
4. Motohashi, S., Okamoto, Y., Yoshino, I., Nakayama, T. Anti-tumor immune responses induced by iNKT cell-based immunotherapy for lung cancer and head and neck cancer. *Clinical Immunology* 140:167-176, 2011. (査読有)
5. Kobayashi, K., Tanaka, Y., Horiguchi, S., Yamamoto, S., Nakayama, T., Sugimoto, A., Okamoto, Y. The effect of radiotherapy on NKT cells in patients with advanced head and neck cancer. *Cancer Immunology and Immunotherapy*. 59:1503-1509, 2010. (査読有)
6. Kumii, N., Horiguchi, S., Motohashi, S., Yamamoto, H., Ueno, N., Yamamoto, S., Sakurai, D., Taniguchi, M., Nakayama, T., Okamoto, Y. Combination Therapy of In vitro Expanded Natural Killer T Cells and α -Galactosylceramide-pulsed Antigen Presenting Cells in Patients with Recurrent Head and Neck Carcinoma. *Cancer Science*. 100:1092-1098, 2009. (査読有)
7. Yanagi, T., Mizoe, J.E., Hasegawa, A., Takagi, R., Bessho, H., Onda, T., Kamada, T., Okamoto, Y., Tsujii, H. Mucosal malignant melanoma of the head and neck treated by carbon ion radiotherapy. *International Journal of Radiation Oncology*. 74:15-20, 2009. (査読有)

[学会発表] (計5件)

1. 山崎一樹、茶菌英明、堀口茂俊、花澤豊行、岡

本美孝、新しい頭頸部癌治療の展望：自然免疫系（NKT細胞）を利用した細胞免疫療法、第35回日本頭頸部癌学会、2011年6月9日、名古屋。

2. 岡本美孝、藤川陽、稲嶺絢子、

Nasal submucosal administration of antigen-presenting cells induced effective immunological response in cancer immunotherapy. 第7回国際上気道粘膜・扁桃学会、2010年10月7-9日、旭川。

3. Yamasaki K, Katada K, Kikkawa N, Yonekura S, Okamoto Y, Phase II study of Activated NKT Cells and α -GalCer-pulsed DCs in Patients with recurrent and operable Head and Neck Carcinoma. 13th KJ Joint Meeting of Otorhinolaryngology Head & Neck Surgery. 2010年9月10日、Seoul/ Korea.

4. 岡本美孝、NKT cell-based immunotherapy for cancer: Nasal submucosal administration of antigen-presenting cells may induce effective anti-tumor immune responses. 第4回千葉大学 Global COE シンポジウム、2010年8月20日、千葉。

5. 山崎一樹、堀口茂俊、藤川陽、佐々原剛、米倉修二、花澤豊行、岡本美孝、頭頸部扁平上皮癌に対する活性化NKT細胞と α -GalCerパルス抗原提示細胞投与による第二相臨床試験、第111回日本耳鼻咽喉科学会総会・学術講演会、2010年5月21日、仙台。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 美孝 (Okamoto Yoshitaka)
千葉大学・大学院医学研究院・教授
研究者番号：401369157

(2) 研究分担者(21年度のみ)

堀口 茂俊 (Horiguchi Shigetoshi)
千葉大学・大学院医学研究院・講師
研究者番号：30293468

(3) 連携研究者(23年度のみ)

山崎 一樹 (Yamasaki Kazuki)
千葉大学医学部附属病院・医員
研究者番号：00422238