

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 15 日現在

機関番号：32645

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21791332

研究課題名（和文） 癌に対する低侵襲局所療法と樹状細胞癌ワクチン療法との融合による相乗効果

研究課題名（英文） The synergistic effect of minimum invasive anti-cancer therapy in combination with dendritic cell cancer vaccine

研究代表者

佐治 久 (SAJI HISASHI)

東京医科大学・医学部・講師

研究者番号：60420965

研究成果の概要（和文）：

我々はマウスの癌モデルを用いて光線力学的治療と樹状細胞癌ワクチン療法との相乗効果を報告してきた (Saji H et al, Clin Cancer Res. 2006)。本研究では臨床応用に向けた前臨床研究を行った。免疫治療を進める上で宿主の免疫状態を把握することは重要である。①肺癌切除検体 50 例を用いて免疫染色にて FOXP3+腫瘍浸潤性 Regulatory T cell を測定し、臨床病理学的因子との相関関係を調べた。年齢、性別には有意差は無い。組織型では扁平上皮癌に比べて腺癌で多い傾向があり、リンパ節転移頻度とも相関関係を認めた。症例を 150 例に増やして研究を継続している。②「切除不能進行再発非小細胞肺癌に対する自己樹状細胞腫瘍内注入療法と光線力学的治療、ラジオ波、抗癌剤治療との併用療法の臨床研究」の実施計画書を作成する。①の結果を踏まえて対象症例を選別し、試験開始と症例登録に向けて準備をしている。

研究成果の概要（英文）：

We previously reported the synergic effect of photodynamic therapy and dendritic cell cancer vaccine therapy for mouse cancer models (Saji H et al, Clin Cancer Res. 2006). In this program, we performed the preclinical research for the possible clinical application of minimum invasive anti-cancer therapy in combination with dendritic cell cancer vaccine.

It must be very essential to recognize the exact host immune-status against cancer for development of cancer immunotherapy. Expression of the transcription factor FOXP3 characterizes regulatory T cells that engage in the maintenance of immunological self-tolerance and immune homeostasis. First we analyzed the expression of FOXP3 positive lymphocytes in 50 non-small cell lung cancer (NSCLC) tissues and assessed the correlation between these expression and clinicopathological factors. There is no correlation between these expression and age or gender. Expression of FOXP3 positive lymphocytes were increased in adenocarcinoma compared with non-adenocarcinoma. There was positive correlation between these expression and lymph node metastasis. Therefore, we further study this analysis in additional 100 NSCLC tissues. Secondary, we have conducted the clinical cancer vaccine trial of intratumoral dendritic cell injection in combination with photodynamic therapy, radiofrequency ablation or chemotherapy for locally advanced non resectable NSCLC.

交付決定額

(金額単位：円)

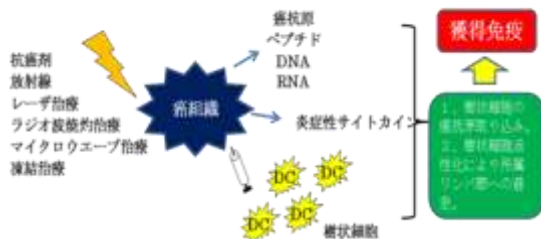
	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	900,000	270,000	1,170,000
2011年度	900,000	270,000	1,170,000
総計	3,200,000	960,000	4,160,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：外科系臨床医学・胸部外科学

キーワード：肺癌、腫瘍免疫、宿主免疫応答、樹状細胞癌ワクチン治療、光線力学的治療

図1、樹状細胞腫瘍内注入療法による獲得免疫のメカニズム



1. 研究開始当初の背景

(1) 昨今の外科治療のキーワードとして“**身体にやさしい治療**”があげられる。人口の高齢化に伴い、呼吸器外科領域においても重要臓器の機能不十分な症例が増え、標準治療である手術治療、抗癌剤治療、放射線治療が満足に受けられないのが現状である。その代替治療として**レーザー治療（光線力学的治療）、ラジオ波治療、マイクロウェーブ治療、凍結治療**などが臨床応用され、これらは“**低侵襲局所療法**”として開発されている。しかし、肺癌は早期の段階ですでに全身性疾患であることが多く、その適応は限られている。

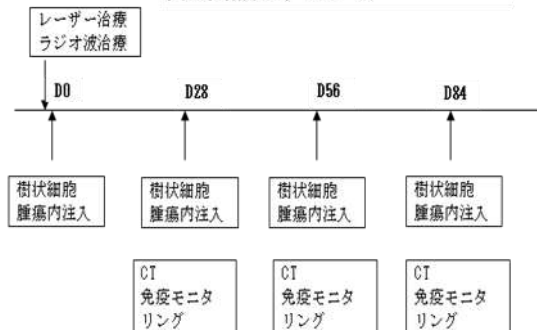
(2) **癌免疫治療**は90年代に脚光を浴び、現在なお様々な試みがなされている。その効果は満足できるものではなく、臨床試験においてその有効性が証明されたものは少ない。しかし、免疫治療は、それ自体には**重篤な副作用のない全身療法**で、腫瘍特異免疫の獲得が可能となれば、**再発、転移の制御も可能**となり得る。理論的には**一生その癌に対する心配から解放される**という魅力的な治療法であると考えられている。

(3) 我々は、前述した2つの種類の異なる治療として、光線力学的治療と樹状細胞癌ワクチン治療の融合の有効性をマウスレベルで報告をしてきた (Saji H et al, Clin Cancer Res. 2006)。そのメカニズムを図1に示す。**腫瘍内樹状細胞注入前に局所治療などで腫瘍組織にネクロシス、アポトーシスを起こす。同部位に注入された未熟樹状細胞はそれら破壊された組織を癌抗原として取り込む。**

さらに破壊された組織から放出される炎症性サイトカインは樹状細胞を活性化することにより、所属リンパ節への遊走を促し、T細胞への抗原提示を行い獲得免疫が成立すると考えられている。

(4) 最近の研究成果から**自己樹状細胞の投与方法**、さらに**宿主の制御性T細胞の状態による効果の違い**があるとの見地から、まずは肺癌組織における宿主の免疫状態を検討する前臨床研究を先行している。

図4、治療スケジュール



2. 研究の目的

(1) **切除不能進行再発非小細胞肺癌**に対する**自己樹状細胞腫瘍内注入療法**と**既存抗癌治療**との併用療法の臨床研究を計画・実行し、その有効性を検証する。

(2) 腫瘍免疫治療を行う場合、**癌状態の宿主免疫状態の把握は成功のカギ**を握っている。**制御性T細胞の状態をはじめとする分子生物学的環境と、リンパ節転移の状態、リンパ管・血管侵襲、腫瘍部位をはじめとする様々な臨床病理学的因子とその予後との関係**に関して検証する。

3. 研究の方法

(1) 図3にレーザー治療、ラジオ波、抗癌剤治療を先行した後に未熟樹状細胞腫瘍内注入する癌ワクチン治療の方法の概要を示す。

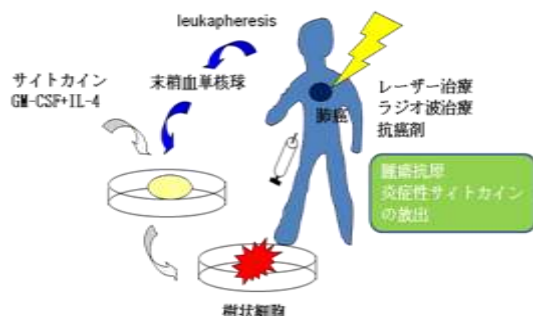
(2) 免疫獲得におけるメカニズム解明を目的として、当院にある腫瘍切除検体 150 例を用いて免疫染色にて FOXP3、CD3+腫瘍浸潤性 T 細胞を、酵素結合免疫吸着法にて TGF-beta1、インターフェロンガンマ、インターロイキン 10、インターロイキン 12p70、血管内皮増殖因子の発現を測定する。本研究では肺癌組織でのその検討の加えて、以前より指摘されている免疫応答に関与する液性因子である上記サイトカインの発現も同時に測定し、それらにおける相関関係についても検討を試みる。

(3) 腫瘍免疫の獲得には宿主の状態の把握が重要である。免疫に関与するものにリンパ節の状態がある。肺癌切除例 928 例を対象として、そのリンパ節転移個数ならびに郭清個数と予後に対する検討を行う。同様に 2000 年～2007 年の当施設における肺癌切除症例を用いて、腫瘍周囲微小循環環境を規定するリンパ管・血管侵襲、腫瘍部位をはじめとする様々な臨床病理学的因子とその予後との関係に関して検証する。

4. 研究成果

(1) 「切除不能進行再発非小細胞肺癌に対する自己樹状細胞腫瘍内注入療法と既存抗癌治療との併用療法の臨床研究」実施計画書を作成。後述する(2)での宿主の免疫応答の状態を把握する研究の結果を踏まえて、対象症例を選別して試験開始する予定である。現在、症例登録に向けて準備をしている。

図3. レーザー治療、ラジオ波治療、抗癌剤と樹状細胞腫瘍ワクチン治療との併用療法

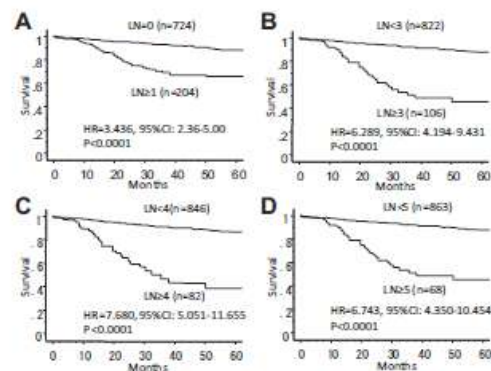


(2) 腫瘍浸潤性 Regulatory T cell の程度と臨床病理学的因子との相関関係に関する研究を施行。当院にある腫瘍切除検体 50 例を用いて免疫染色にて FOXP3+腫瘍浸潤性 T 細胞を測定した。結果は年齢、性別には有意差は認めなかった。組織型では扁平上皮癌に比

べて腺癌で多い傾向があり、リンパ節転移頻度とも相関関係を認めた。現在、症例を 150 例に増やして研究を継続している。

(3) リンパ節個数

現在の肺癌取り扱い規約では、病期の決定におけるリンパ節因子は転移場所で規定されている。しかし、他臓器腫瘍ではリンパ節転移個数が予後を左右する方向への流れになっている。前述の(2)の如く、腫瘍に対する宿主の免疫応答の状態とリンパ節転移とは深く関係するため、免疫治療を施行する場合には、特に正確に把握する必要がある。本



研究 (Saji H, et al. JT02011) では、特に転移個数 4 個を超える症例は予後が悪く、宿主の免疫応答の破壊が考えられる (下図)。その結果を参考にして、臨床試験の対象症例の検討を考えている。

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 9 件)

① Shimada Y, Saji H, Yoshida K, Kakihana M, Honda H, Nomura M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Pathological vascular invasion and tumor differentiation predict cancer recurrence in stage IA non-small cell lung cancer after complete surgical resection, J Thoracic Oncol 2012; PubMed Online.

② Kudo Y, Saji H, Shimada Y, Nomura M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Do tumours located in the left lower lobe have worse outcomes in lymph node-positive non-small cell lung cancer than tumours in other lobes? Eur J Cardiothorac Surg 2012.

③ Saji H, Tsuboi M, Yoshida K, Kato Y, Nomura M, Matsubayashi J, Nagao T, Kakihana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Prognostic impact of number of

resected and involved lymph nodes at complete resection on survival in non-small cell lung cancer. J Thorac Oncol 2011; 6: 1865-1871.

④Saji H, Ikeda N. Challenges and future directions for clinical trials about surgical strategies for lung cancer in Japan (review in Japanese). Journal of Clinical Surgery 2011; 66.

⑤Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Ohtani K, Inoue T, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Uchida O, Nomura M, Tsutsui H, Ohira T, Ikeda N. Klotho is a novel biomarker for good survival in resected large cell neuroendocrine carcinoma of the lung. Lung Cancer 2011; 72: 355-359.

⑥Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Ohtani K, Inoue T, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Uchida O, Nomura M, Ohira T, Ikeda N. Klotho predicts good clinical outcome in patients with limited-disease small cell lung cancer who received surgery. Lung Cancer 2011

⑦ Saji H, Tsuboi M, Matsubayashi J, Miyajima K, Shimada Y, Imai K, Kato Y, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ohira T, Hirano T, Mukai K, Kato H, Ikeda N. Clinical response of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung to perioperative adjuvant chemotherapy. Anticancer Drugs 2010; 21: 89-93.

⑧Nakamura K, Saji H, Nakajima R, Okada M, Asamura H, Shibata T, Nakamura S, Tada H, Tsuboi M. A phase III randomized trial of lobectomy versus limited resection for small-sized peripheral non-small cell lung cancer (JCOG0802/WJOG4607L). Jpn J Clin Oncol 2010; 40: 271-274.

⑨Shimada Y, Tsuboi M, Saji H, Miyajima K, Usuda J, Uchida O, Kajiwara N, Ohira T, Hirano T, Kato H, Ikeda N. The prognostic impact of main bronchial lymph node involvement in non-small cell lung carcinoma: suggestions for a modification of the staging system. Ann Thorac Surg 2009; 88: 1583-1588.

[学会発表] (計 33 件)

①佐治 久、「I, II 期非小細胞肺癌に対する外科療法」 - 情報の共有と知の創造 -、教育講演、第 52 回日本肺癌学会総会、

20.11.11.4、大阪

②中嶋 隆、鈴木 健司、小池 輝明、楠本 昌彦、浅村 尚生、永井 完治、多田 弘人、山下 素弘、光富 徹哉、池田 徳彦、佐治 久、坪井 正博、胸部薄切 CT 所見に基づく肺野型早期肺癌の診断とその妥当性に関する前向き研究：5 年生存追跡結果の報告、一般口演、第 52 回日本肺癌学会総会、20.11.11.4、大阪

③嶋田 善久、佐治 久、石角太一郎、萩原 優、垣花 昌俊、臼田 実男、本多 英俊、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、下葉原発非小細胞肺癌における上縦隔リンパ節郭清省略についての検討、一般口演、第 52 回日本肺癌学会総会、20.11.11.3、大阪

④石角太一郎、臼田 実男、嶋田 善久、萩原 優、佐治 久、垣花 昌俊、本多 英俊、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、肺癌手術症例における術前縦隔 N 因子診断の成績、一般口演、第 52 回日本肺癌学会総会、20.11.11.3、大阪

⑤臼田 実男、石角太一郎、一ノ瀬修二、井上 達哉、大谷 圭志、佐治 久、垣花 昌俊、本多 英俊、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、神経内分泌肺癌における Klotho 発現と予後との関係、ワークショップ、第 52 回日本肺癌学会総会、20.11.11.3、大阪

⑥臼田 実男、石角太一郎、一ノ瀬修二、佐治 久、垣花 昌俊、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、アンチエイジング遺伝子 Klotho 発現と神経内分泌肺癌の予後との関係、一般口演、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会、2011.10.12、大阪

⑦工藤 勇人、佐治 久、前田 純一、一ノ瀬修二、本多 英俊、垣花 昌俊、長瀬 清亮、臼田 実男、野村 将春、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、TNM 分類第 7 版における胸膜浸潤と予後の検討、一般口演、第 64 回日本胸部外科学会定期学術集会、2011.10.11、大阪

⑧Kudo Y, Saji H, Shimada Y, Iwasaki K, Nomura M, Matsubayashi J, Kakihana M, Nagase S, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Do Tumors Located in the Left Lower Lobe have Worse Outcome in Lymph Node-positive Non-small Cell Lung Cancer? The 6th Biennial Meeting of Asian Thoracic Surgical Club, 2011.9.1, Busan, Korea.

⑨Kakihana M, Yoshida K, Taira M, Saji H,

Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Clinical value of intraoperative pleural lavage cytological positivity in lung cancer patients. 14th World Conference on Lung Cancer, 2011.7.7, Amsterdam, Netherland.

⑩Kudo Y, Saji H, Ichinose S, Nomura M, Matsubayashi J, Kataba H, Kakhana M, Nagase S, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Prognostic value of visceral pleural invasion in the new TNM classification of non-small cell lung cancer. 14th World Conference on Lung Cancer, 2011.7.7, Amsterdam, Netherland.

⑪Saji H, Inoue T, Yamaguchi G, Kudo Y, Nomura M, Matsubayashi J, Kakhana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Prognostic significance of intratumoral vasculature invasion in non-small cell lung cancer - a candidate of pathological prognostic factors in the next TNM classification. 14th World Conference on Lung Cancer. 2011.7.5, Amsterdam, Netherland.

⑫白田 実男、一ノ瀬修二、石角太一郎、井上 達哉、大谷 圭志、本多 英俊、佐治久、垣花 昌俊、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、肺癌に対する光線力学的治療のメカニズム解明と適応拡大に関する研究、第34回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、2011.6.16、浜松

⑬工藤 勇人、佐治久、片場 寛明、一ノ瀬修二、垣花 昌俊、長瀬 清亮、白田 実男、野村 将春、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、非小細胞肺癌における原発巣部位と予後の関係～左下葉は予後不良因子か？ 第28回日本呼吸器外科学会総会、2011.5.12、別府

⑭吉田 浩一、平良 真博、工藤 勇人、本多 英俊、佐治久、垣花 昌俊、白田 実男、梶原 直央、大平 達夫、池田 徳彦、肺癌手術後における早期再発症例の検討、第28回日本呼吸器外科学会総会、2011.5.12、別府

⑮Yamaguchi G, Ikeda N, Kuroda M, Ohira T, Uchida O, Kajiwara N, Usuda J, Kakhana M, Saji H, Takanashi M, Fujita K, Yoshida K, Kataba H, Iwasaki K, Tanaka M. The isolation of miRNA targeting EGFR gene in lung cancer. American Association for Cancer Research 102th Annual Meeting.

2011.4.6, Orland, USA.

⑯Uchida O, Taira M, Saji H, Kakhana M, Usuda J, Kajiwara N, Ohira T, Ikeda N. Prognostic Value of Sialylated Glycoprotein KL-6 in Resected Non-Small Cell Lung Cancer. 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference. 2010.12.4, Seoul, Korea.

⑰Kudo Y, Ichinose S, Kataba H, Saji H, Kakhana M, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ohira T, Ikeda N. Risk factor for recurrence in completely resected stage IA non-small cell lung cancer patients with tumors less than 2 cm in maximum dimension. 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference. 2010.12.4, Seoul, Korea.

⑱Saji H, Inoue T, Yamaguchi G, Nomura M, Kakhana M, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ohira T, Ikeda N. Which is Superior Prognostic Factor of Total Number or Anatomical Location of Involved Lymph-Nodes (LNS) in Non-Small Cell Lung Cancer (NSCLC)? 4th Asia Pacific Lung Cancer Conference. 2010.12.3, Seoul, Korea.

⑲白田 実男、一ノ瀬修二、大谷 圭志、井上 達哉、佐治久、垣花 昌俊、梶原 直央、内田 修、大平 達夫、池田 徳彦、肺大細胞神経内分泌癌におけるアンチエイジング遺伝子 Klotho 発現の臨床的意義、ワークショップ、第51回日本肺癌学会総会、2010.11.4、広島

⑳佐治久、肺神経内分泌癌に対する周術期補助抗癌剤治療の臨床的意義—当院での経験、ワークショップ、第51回日本肺癌学会総会、2010.11.3、広島

21. 山口 学、大平 達夫、岩崎賢太郎、片場 寛明、井上 達哉、吉田 浩一、佐治久、垣花 昌俊、白田 実男、梶原 直央、内田 修、大野慎一郎、高梨 正勝、黒田 雅彦、池田 徳彦. EGFR 遺伝子を標的とする miRNA の単離と解析. 特別講演、第63回日本胸部外科学会定期学術集会、2010.10.25、大阪

22. Saji H, Tsuboi M, Matsubayashi J, Miyajima K, Yoshida K, Shimada Y, Imai K, Kato Y, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ohira T, Kato H, Ikeda N. Clinical outcome of large cell neuroendocrine carcinoma of the lung to pre or post operative adjuvant

chemotherapy, a single institutional report. 9th International Conference of The Asian Clinical Oncology Society (ACOS). 2010.8.26, Gifu, Japan.

23. 佐治 久、池田徳彦、N 因子分類（解剖学的位置と転移個数）の方向性、ワークショップ、第25回日本肺癌学会ワークショップ、2010.7.3、東京

24. Ohira T, Yoshida K, Ichinose S, Nomura M, Saji H, Kakihana M, Honda H, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ikeda N. The results and methods of EGFR mutation using specimen by endoscopy. 16th World Congress for Bronchology. 2010.6.16, Budapest, Hungary.

25. Usuda J, Ichinose S, Ohtani K, Inoue T, Honda H, Saji H, Kakihana M, Kajiwara N, Ohira T, Uchida O, Ikeda N. Outcome of photodynamic therapy using NPe6 for bronchogenic carcinomas in central airways more than 1.0 cm in diameter. 16th World Congress for Bronchology. 2010.6.15, Budapest, Hungary.

26. 臼田 実男、一ノ瀬修二、大谷 圭志、本多 英俊、佐治 久、垣花 昌俊、梶原直央、内田 修、大平 達夫、加藤 治文、池田 徳彦、末梢型肺癌に対する光線力学的治療の検討、第33回日本呼吸器内視鏡学会学術集会、2010.6.10、横浜

27. 大平 達夫、一ノ瀬修二、大谷 圭志、小林 慎吾、及川 武史、佐治 久、垣花昌俊、本多 英俊、梶原 直央、内田 修、池田 徳彦、肺癌手術治療成績の向上をめざした基礎研究、第110回日本外科学会定期学術集会、2010.4.10、名古屋

28. Saji H, Tsuboi M, Usuda J, Kajiwara N, Uchida O, Ohira T, Ikeda N. Prognostic impact of gene expression profile in early stage Non-small Cell Lung Cancer. 13th World Conference on Lung Cancer. 2009.8.3, San Francisco, USA.

29. Usuda J, Ichinose S, Ishizumi T, Ohtani K, Maehara S, Kajiwara N, Saji H, Ohira T, Ikeda N. Breast cancer resistant protein (BCRP) is a molecular determinant of the outcome of photodynamic therapy (PDT) for centrally located early lung cancer. World Conference on Lung Cancer. 2009.8.2, San Francisco, USA.

30. Saji H, Tsuboi M, Miyajima M, Ohira T, Ikeda N. Impact of number of resected and involved lymph nodes (LN) at the time of surgical resection on the survival of non-small cell lung cancer (NSCLC). American Society of Clinical Oncology, Annual Meeting. 2009.5.30, Orland, FL, USA.

31. 佐治 久、宮島 邦治、一ノ瀬修二、加藤 靖文、臼田 実男、梶原 直央、内田 修、大平 達夫、平野 隆、池田 徳彦、肺癌におけるリンパ節郭清の意義ーリンパ節郭清個数と転移個数およびその部位からの検討、第26回日本呼吸器外科学会総会、2009.5.14.

32. Saji H, Tsuboi M, Usuda J, Nomura M, Ohira T, Ikeda N. A Gene Expression signature Predicts Prognosis of Patients with early stage Non-Small Cell Lung Cancer. American Association for Cancer Research, 100th Annual Meeting. 2009.4.20, Denver, CO, USA.

33. Ohira T, Usuda J, Ichinose S, Maehara S, Kuwajima Y, Saji H, Kakihana M, Nomura M, Kajiwara N, Uchida O, Hirano T, Ikeda N. microRNA profiles of lung cancer patients using Formalin-fixed, Paraffin-embedded tissue. American Association for Cancer Research, 100th Annual Meeting. 2009.4.19, Denver, CO, USA.

〔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
所属する教室のホームページにてその成果
と現状を報告している。
<http://www.tokyo-med.ac.jp/surg1/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐治 久 (SAJI HISASHI)
東京医科大学・医学部・講師
研究者番号：60420965

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者 ()

研究者番号：