

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 17 日現在

機関番号：15501

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23591988

研究課題名(和文) HSP70mRNA導入樹状細胞を用いた肝細胞癌術後補助療法の開発

研究課題名(英文) adjuvant immunotherapy using HSP70mRNA encoding dendritic cells after hepatectomy for the patients with hepatocellular carcinoma

研究代表者

為佐 卓夫 (TAMESA, TAKAO)

山口大学・医学部附属病院・講師

研究者番号：30359905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円、(間接経費) 1,170,000円

研究成果の概要(和文)：肝細胞癌術後補助療法としての肝細胞癌術後HSP70mRNA導入樹状細胞療法(DC)を用いた第Ⅰ相ランダム化臨床比較試験を行った。DC群と手術単独群の2群に分け、安全性と予後を検討した。最初の9例を第Ⅰ相試験とし安全性を評価した。第Ⅱ相試験：安全性を確認した。現在進行中(DC群18例、手術単独群9例)、全例生存中である。免疫反応の評価(1)NK細胞やB細胞などの非特異的な免疫反応の増加の可能性が示唆され(2)ELISpot assayでは、術後(フェレーシス2回目)のspot数は一旦減少し、その後増加傾向となった。HSP70に対する特異的な免疫反応の可能性が示唆された。

研究成果の概要(英文)：A Phase 1/2 study of adjuvant immunotherapy using HSP70mRNA encoding dendritic cells after hepatectomy for the patients with hepatocellular carcinoma was performed. Patients were randomly assigned to DC group or surgery group. The safety and the efficacy were evaluated. First 9 patients were recruited to confirm the safety as phase 1 study. (1)Phase 1/2 study: The safety of this therapy was confirmed. All patients (DC group: 18 cases, surgery group: 8 cases) were alive, currently in progress. (2)Immunological assessment: (1)Possibility of non-specific immunoreaction in NK cells and B cells was suggested. (2)Possibility of was specific immunoreaction for HSP70 was suggested by ELISpot assay.

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：肝細胞癌 術後補助療法 樹状細胞療法

1. 研究開始当初の背景

(1) 肝細胞癌術後の再発予防のエビデンスはいまだなく、補助療法もない。その理由として、有効な抗がん剤が少ないことや化学療法剤による背景肝障害の増悪などがあり、新しい治療法の開発が必要である。近年、樹状細胞を用いた癌免疫療法が行われており、mRNA 導入樹状細胞療法は副作用がなく、ある程度の効果が報告されていた。

(2) 当教室では、肝細胞癌を対象としたマイクロアレイによる遺伝子解析 (Lancet, 361(9361):923-929, 2003:lizuka N, Oka M) およびプロテオミクス解析のデータベース (Proteomics. 3(12):2487-93, 2003:Takashima M, Oka M) の中から HSP70 に絞り込みを行った。

(3) 第 相試験では、HSP70 total mRNA を導入した樹状細胞を肝細胞癌再発患者に投与し、その安全性を確認しつつ有効性を確認した。それらの症例の中で 2 例の CR, 1 例の PR を得た (平成 20 ~ 23 年度基盤 C (20591612))。

またこの第 相試験の際に、投与樹状細胞個数の 1 回投与量 (個数) は、 1×10^7 , 2×10^7 , 3×10^7 の 3 段階の投与を行い、安全性を確認し、推奨投与量を 3×10^7 と決定した。

肝細胞癌肝切除術後の補助療法には有効なものがない。そこで副作用がなく効果が期待できる樹状細胞療法を術後補助療法として行うことにより、予後の改善が期待できる。

2. 研究の目的

研究の目的は、肝細胞癌術後補助療法としての HSP70mRNA 導入樹状細胞療法の安全性と有効性を明らかにすることである。このために、第 / 相ランダム化臨床比較試験を行い、その際に免疫反応について検討する。

3. 研究の方法

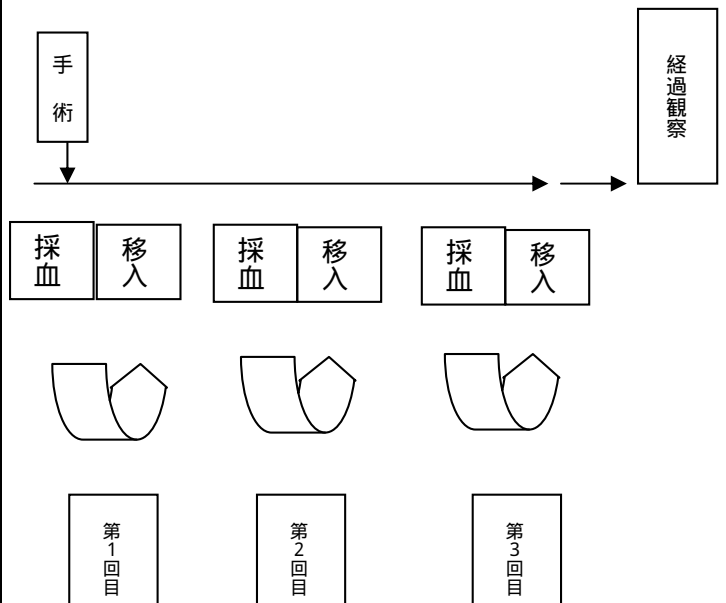
(1) 肝細胞癌術後 HSP70mRNA 導入樹状細胞療法を用いた第 / 相ランダム化臨床比較試験を計画した。

(2) 肝切除樹状細胞療法群 (DC 群) と手術単独群の 2 群に分けて行った。

(3) 樹状細胞療法は、患者末梢血より採取した単核球を培養誘導し、樹状細胞に成熟化させる。HSP70mRNA をエレクトロポレーション法にて樹状細胞に導入し、第 相試験で決定した推奨投与量の 3×10^7 個を計 3 回皮下注射した。

投与のタイミングは、術後約 7 日目を第 1 回目とし、約 3 週間ごとに細胞培養と投与を行う。

(4) Primary end point は 1 年無再発生存率、Secondary end point は安全性と全生存率とした。特に最初の 9 例を第 相試験とし、安全性について検討した。



(5) DC 群は 30 例、手術単独群は 15 例の計 45 例の登録を目標とした。

治療成績ならびに安全性と共に、免疫学的反応の評価を行った。

免疫学的評価は PBMC の表面マーカーについてフローサイトメーターを用いて測定し、HSP70 に対する特異的反応については ELISpot アッセイを用いて測定した。

4 . 研究成果

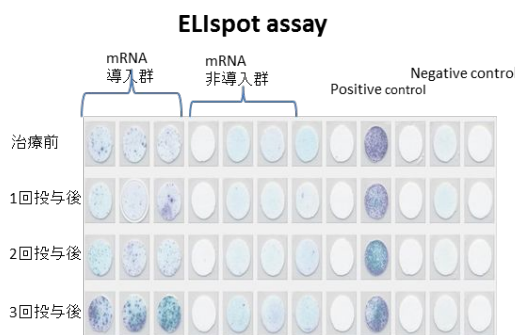
(1) 第 / 相試験

登録数は 27 例。DC 群 18 例、手術単独群 9 例。第 相試験である 9 例については施行終了し、肝切除術後における本樹状細胞療法に関する有害事象のないことを確認し、安全性を確認した。現在、DC 群に 1 例再発を認めているが、手術単独群には再発例はない。生存に関しては全例生存中である。

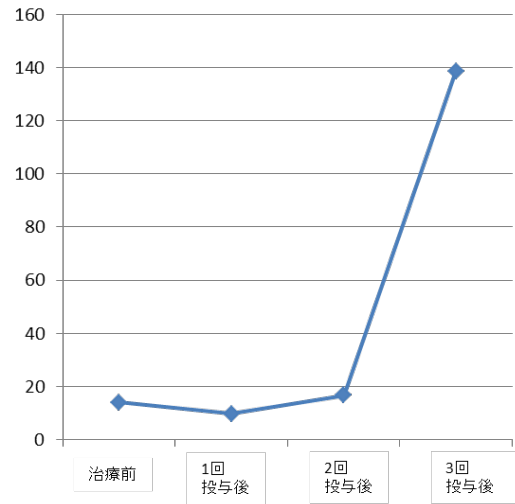
(2) 免疫反応の評価

肝細胞癌術後補助療法としての HSP70mRNA 導入樹状細胞療法において、免疫学的機能を評価するために、治療前、樹状細胞投与 1 回目、2 回目、3 回目のフェレーシス時及び、投与終了 1 ヶ月後、3 ヶ月後、6 ヶ月後に PBMC の表面マーカーを測定した。その結果、CD3, CD4, CD8 では治療前後で大きな変化は認めなかった。一方で、CD20, CD56, HLA-DR は治療とともに増加傾向であり、NK 細胞や B 細胞などの非特異的な免疫反応の増加の可能性が示唆された。

本試験において、HSP70 特異的な免疫反応を確認するため、と同時期に ELISpot assay を行った。その結果、術後（フェレーシス 2 回目）の spot 数は術前と比し減少したがそれ以降、増加傾向となった。このため、HSP70 に対する特異的な免疫反応の可能性が示唆された。



特異的spot数の変化



特異的spot数=mRNA導入群spot数-mRNA非導入群spot数

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 0 件)

[学会発表] (計 1 件)

松井洋人、爲佐卓夫、岡 正朗
HSP70_mRNA 導入樹状細胞療法を用いた肝細胞癌 (HCC) 術後補助療法の第 I / II 相試験
第 114 回 日本外科学会総会 2014 年 4 月
12 日 京都 (京都国際会議場)

[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：なし

6．研究組織

(1)研究代表者

為佐 卓夫（TAMESA, TAKAO）
山口大学・医学部附属病院・講師
研究者番号：30359905

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし