

厚生労働科学研究費補助金
効果的医療技術の確立推進臨床研究事業

＜研究課題名＞

固形がんに対する同種細胞免疫療法を用いた
標準的治療法の確立に関する研究
～転移固形腫瘍を対象としたミニ移植の安全性と有効性の検討～

平成14年度 総括・分担研究報告書

主任研究者 高上 洋一
(所属機関 国立がんセンター中央病院)

平成 15 (2003) 年 4月

【 目 次 】

I 総括研究報告

P1~4 国立がんセンター中央病院 高上 洋一
固形がんに対する同種細胞免疫療法を用いた標準的治療法の確立に関する研究
～転移固形腫瘍を対象としたミニ移植の安全性と有効性の検討～

II 分担研究報告

P5~6 国立がんセンター研究所 平家 勇司
同種移植後免疫回復の解析並びにその結果に基づいた診断法・治療法の開発に関する研究

P7~9 国立がんセンター中央病院 國頭 英夫
細胞免疫療法の臨床評価に関する研究

P10~12 都立駒込病院 高橋 俊雄
膵癌に対するミニ移植の開発に関する研究

P13 和歌山県立医科大学 山上 裕機
消化器癌に対する同種細胞免疫療法の開発に関する研究

P14~15 山形大学医学部 富田 善彦
固形がんに対する同種細胞免疫療法における腫瘍細胞効果規定因子の検討

P16~17 岡山大学大学院 公文 裕巳
転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討に関する研究

P18~19 金沢大学大学院 並木 幹夫
腎細胞癌に対するミニ移植の臨床的研究

P20~22 京都府立医科大学 三木 恒治
転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討に関する研究

P23~26 岩手医科大学 藤岡 知昭
進行性腎細胞癌（腎癌）に対する同種細胞免疫療法を用いた標準治療法の確立に関する研究

P27~28 国立がんセンター中央病院 岡島 英二郎
泌尿器癌に対する同種細胞免疫療法に関する研究

III

P29~31 研究成果の刊行に関する一覧表

IV

研究成果の刊行物 別刷

総括研究報告書

「固形がんに対する同種細胞免疫療法を用いた標準的治療法の確立に関する研究
～転移固形腫瘍を対象としたミニ移植の安全性と有効性の検討～」

主任研究者 高上 洋一 国立がんセンター中央病院 薬物療法部医長

研究要旨

転移性の固形腫瘍患者において、同種抗腫瘍免疫効果(graft-versus-tumor GVT 効果)を引き出すことを主旨とした骨髄非破壊的移植(ミニ移植)の安全性と有効性を、移植領域における医師主導臨床試験としては世界でも始めて、新 GCP に則った厳正な臨床試験を行って評価する。本研究において治療の有用性が確認された場合には、試験薬剤の輸入販売会社に対して適応症申請を要請して社会への還元を図る。本年度は、試験計画書と症例報告書の作成に加えて、画像と病理検体などの回収ルートの設定、病理並びに放射線の中央診断の標準操作手順書などを作成して登録準備を整えた。この過程をインターネットやメーリングリストで公開して啓蒙活動を行った。

分担研究者名(所属機関名・職名)

平家勇司(国立がんセンター研究所・主任研究官)

國頭英夫(国立がんセンター中央病院・医長)

高橋俊雄(東京都立駒込病院・院長)

山上裕機(和歌山県立医科大学・教授)

富田善彦(山形大学医学部・教授)

公文裕巳(岡山大学大学院・教授)

並木幹夫(金沢大学大学院・教授)

三木恒治(京都府立医科大学・教授)

藤岡知昭(岩手医科大学・教授)

岡島英二郎(国立がんセンター中央病院・医員)

試験を行って確認する。同時に、得られた質の高いデータを医薬品の承認申請(移植前処置に用いるリン酸フルダラビン)に供する妥当性をも検証することで、我が国における移植領域の臨床試験体制の基盤整備を図る。

難治性の腎癌や膵がんなどの難治性固形腫瘍に対する有効な治療法を開発することは急務である。最近に至って、従来は白血病治療に用いられていた同種造血幹細胞移植のもつ抗腫瘍効果は、前治療として行う大量抗癌剤療法そのものよりも、むしろその後に患者体内で生着して増殖するトナー由来のリンパ球などを介して発生する免疫学的効果の果たす役割が大きいことが明らかとなった。これを graft-versus-tumor (GVT)効果と称する。ただ通常と同種移植を行った場合には、重度の副作用が多発するため固形腫瘍患者に対しては施行されることはなかった。

一方、ミニ移植は、従来の移植療法の概念とはまったく異なり、同種免疫反応を中心に据えた治療に主旨を転換することで、治療の安全性を著しく高めた移植方法である。つまり、前処置療法としては抗がん剤治療よりも、

A. 研究目的

本研究では、インターフェロン療法も含めた従来の治療法をもってしては治癒が期待できない転移性の固形腫瘍患者を対象として、強力な同種抗腫瘍免疫効果を引き出すことを主旨とした骨髄非破壊的移植、いわゆるミニ移植の安全性と有効性を、移植領域の医師主導研究としては世界でも初めて新 GCP に準拠した多施設共同第 I 相、あるいは I/II 相臨床

トナー細胞の患者体内への定着と以後の活発な増殖を確実にするための免疫抑制療法に重点を置くものである。本研究では、難治固形腫瘍患者に対して、この同種細胞免疫療法の特徴を強調したミニ移植を用いた新たな治療法を開発する。質の高いエビデンスを得るために、新 GCP に準拠した臨床試験を行うか、この実施に必要な各種の標準手順書(SOP)と効果判定基準を策定する。付随研究として、GVT 効果の機序を、基礎科学的手法を用いて解明することを目指す。

B 研究方法

本研究の対象となるのは、他に有効な治療法がない転移性の腎癌(プロトコール 1)、並びに膵がんや悪性黒色腫などの固形腫瘍患者(プロトコール 2)である。説明同意を書面で得た後に、HLA の一致した血縁ドナーに顆粒球コロニー刺激因子(G-CSF)を皮下注射して末梢血幹細胞を動員した後に、アフエレーシスを行って幹細胞を採取して凍結保存する。患者には、ドナーの造血幹細胞とリンパ球の生着を促進する目的で、当院で開発した骨髄非破壊的前処置としてプリン誘導体であるフルダラビン(30 mg/kg/day x 6 日)と busulfan (4 mg/kg x 4 日)、並びに抗胸腺リンパ球抗体(ATG) 25 mg/kg/日を 2 日間投与する。前処置療法終了後に保存した細胞を解凍して輸注する。移植前後の合併症の程度、生着の速さ、感染症の頻度、急性及び慢性 GVHD の頻度と程度、あるいは腫瘍縮小効果、長期生存と無病生存率などについて評価する。腎癌を対象とした第 I/II 相臨床試験プロトコール 1 の目標症例数は合計 30 例であり、また第 I 相臨床試験であるプロトコール 2 へは 19 例の登録を目標とする。本研究は新 GCP に基づいて実施するために、データ管理は特定非営利活動法人である日本臨床研究支援ユニット(代表、大橋靖雄)に委託する。

具体的な作業としては、初年度に試験計画並びに症例報告書を含めたデータベースと

もに、SOP、免疫療法のための効果判定基準を策定して各施設への周知教育を徹底する。作成した症例登録表を用いて模擬患者登録を繰り返したうえで、事務局と独立したデータ解析センターで執り行う最終的なデータ管理法を確定する。

(倫理面への配慮)

本研究を実施するにあたっては、ヘルシンキ宣言や米国ヘルモントレポート等の国際的倫理原則に従う。つまり、本研究に対する倫理審査委員会の承認が得られた施設からのみ患者登録を行う。対象患者については、いずれも患者本人に説明同意文書の内容を極力分かり易い言葉で説明し、説明同意文書 2 部を作製して本人に渡したうえで文書による同意を得る。

C 研究結果

本研究では、転移性の固形腫瘍患者において、GVT 効果を引き出すことを主旨としたミニ移植の安全性と有効性を、移植領域における医師主導臨床試験としては世界的にも始めて、新 GCP に則った厳正な臨床試験を行って評価する。本年度は、画像と病理検体などの回収ルートの設定、病理並びに放射線の中央診断の SOP、治療効果判定基準、試験計画書と症例報告書の作成作業をほぼ終了させた。しかし試験途中の改変を避けるために、現在、これらの不整合を見出すための模擬患者登録を繰り返し、その状況なども反映させて腎がん専門医による患者登録基準の最終確定を行いつつあり、患者登録を開始するには至っていない。

以上の過程をインターネット(<http://sct.umin.jp/>)やメーリングリスト

(minitransplant@umin.ac.jp)を用いて公開し、試験の透明性を確保すると同時に、移植施設への周知教育をさらに徹底した。また患者並びに家族を中心とした聴衆を対象として、移植医療に関する様々な情報発信を試みた。

一方、並行して継続した国立がんセンター中央病院における Phase I 試験においては、27名の各種の転移性固形腫瘍患者にミニ移植を施行し、移植後 100 日以内に非再発死亡を認めておらず、その安全性の確認が進んでいる。加えて、腎がんと大腸がん患者においては、有意の GVT 効果を観察した。GVT 効果の科学的根拠を解明するために行った付随基礎研究では、腫瘍縮小をきたした大腸がん患者の血中から、がん CEA ペプチドに特異的な cytotoxic T lymphocyte の存在を同定することに始めて成功した。

D 考察

本研究は新 GCP に則って行うため、本治療法の安全性と有用性を短期間に高い信頼性で検証し、海外を先導する研究成果を示すことが可能となる。これによって、現在は有効な治療法がない多くの患者に対する根治的治療法を開発するならば、国民医療に対する貢献は大きく、また厚生労働行政に対する寄与も大きいと考える。

本研究において治療の有用性が確認された場合、前処置で用いたリン酸フルダラビンの輸入販売会社に対し、適応症申請を要請することで社会への還元を図る。同時に、該当領域における我が国の臨床試験基盤を構築し、患者や社会に対する情報公開に努めることで厚生労働行政にも大きく寄与することができる。今回作成した SOP、効果判定基準やデータベースは、今後の医師主導新 GCP 臨床試験を推進するうえでは極めて貴重である。また付随基礎研究の成果は、特異的免疫療法の開発にも応用することが可能となる。

E 結論

抗がん剤などの従来の治療に抵抗性の腎癌や膵がんなどの難治性固形腫瘍に対して有効な治療法を開発することは急務である。本研究においては、同種免疫反応を利用した治療法を新たに開発すると同時に、移植領域にお

ける適応外医薬品の承認申請を促す効果も期待される。我が国における移植領域の臨床試験体制の基盤整備を図るうえでも重要と考える。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表

Shimokawa T, Takaue Y, et al Successful umbilical cord blood transplantation in an infant with ALL who failed initial autologous peripheral blood stem cell transplantation Med Pediatr Oncol, 38 60-61, 2002

Watanabe T, Takaue Y, et al HLA-identical sibling peripheral blood stem cell transplantation in children and adolescents Biol Blood Marrow Transplant, 8 26-31, 2002

Nakai K, Takaue Y, et al Suspected delayed immune recovery against cytomegalovirus after allogeneic blood stem cell transplantation with a reduced-intensity regimen Bone Marrow Transplant, 29 237-241, 2002

Saito T, Takaue Y, et al Therapeutic potential of a reduced-intensity preparative regimen for allogeneic transplantation with cladribine, busulfan and anti-thymocyte globulin against advanced/refractory acute leukemia/lymphoma Clin Cancer Res, 8 1014-1020, 2002

Ohnishi M, Takaue Y, et al Limited efficacy of lamivudine against hepatitis B virus infection in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients

Transplantation, 73 812-815, 2002

Kanda Y, Takaue Y, et al Response-oriented pre-emptive therapy against cytomegalovirus disease with low-dose ganciclovir a prospective evaluation Transplantation, 73 568-572, 2002

Akiyama Y, Takaue Y, et al Identification of HLA-A24-restricted CTL epitope encoded by the matrix protein pp65 of human cytomegalovirus Immunol Lett, 83 21-30, 2002

Nagatoshi Y, Takaue Y, et al Hematopoietic and immune recovery after allogeneic peripheral blood stem cell transplantation and bone marrow transplantation in a pediatric population Pediatric Transplant, 6 319-326, 2002

Kanda Y, Takaue Y, et al Impact of stem cell source and conditioning regimen on erythrocyte recovery kinetics after allogeneic haematopoietic stem cell transplantation from an ABO-incompatible donor Br J Haematol, 118 128-131, 2002

Hamaki T, Takaue Y, et al Successful allogeneic blood stem cell transplantation for aplastic anemia in a patient with renal insufficiency requiring dialysis Bone Marrow Transplant, 30 195-198, 2002

Lee JJ, Takaue Y, et al The role of PGE2 in the differentiation of dendritic cells how do dendritic cells influence T cell polarization and chemokine receptor expression ? Stem Cells, 20 448-459, 2002

Nakai K, Takaue Y, et al Chimerism induction and delayed onset of cytomegalovirus (CMV) infection after allogeneic reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) Blood 100 2674-2675, 2002

Nakai K, Takaue Y, et al Primary cutaneous aspergillosis caused by *Aspergillus ustus* following reduced-intensity stem cell transplantation Ann Hematol, 81 593-596, 2002

Kami M, Takaue Y, et al Use of an inactivated varicella vaccine in recipients of hematopoietic-cell transplants N Engl J Med, 347 1624, 2002

Nakai K, Takaue Y, et al The feasibility of reduced-intensity allogeneic hematopoietic stem cell transplantation from a related donor with HLA one-antigen with or without one-allele mismatch Haematologica, 88 115-117, 2003

Watanabe T, Takaue Y, et al Effect of granulocyte colony-stimulating factor on bone metabolism during peripheral blood stem cell mobilization Int J Hematol, 77 75-81, 2003

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

厚生労働科学研究費補助金 効果的医療技術の確立推進臨床研究事業
分担研究報告書

「同種移植後免疫回復の解析並びにその結果に基づいた診断法・治療法の開発に
関する研究」

分担研究者 平家 勇司 国立がんセンター研究所 薬効試験部主任研究官

研究要旨

ミニ移植における免疫回復は、通常移植と優位な違いはなかった。ATG は免疫回復に与える影響が大きい薬剤であり、使用群において CD4T 細胞並びに NK 細胞の回復の遅延が認められた。各種刺激下での細胞内サイトカインの測定は、各移植間で違いは認められなかった。サイトメガロウイルスの再活性化とそれに対する免疫作用は、細胞内サイトカイン、テトラマーやエリスポット法で追跡可能であった。

A 研究目的

ミニ移植後の免疫回復を解析すると同時に、臨床から得られた情報と比較検討し解析結果の臨床的意味づけを行う。さらに、その結果に基づいて新たな治療法を開発することを本研究の目的とする。

B 研究方法

国立がんセンター中央病院・造血幹細胞移植病棟でミニ移植を受けた患者さんで、移植後免疫回復研究の協力同意が得られた症例を対象として、移植前、移植後 30,60,90,120,180、240,300,360 日目に末梢血中の免疫担当細胞の各種表面マーカー、各種刺激後の細胞内サイトカイン産生を測定し免疫回復の指標とした。さらに、サイトメガロウイルスに関して、テトラマー法やエリスポット法を用いて詳細な解析を行った。これらの研究は、当センター倫理審査委員会の承認を受け行っている

C 研究結果

今回の結果では、通常の通常移植とミニ移植間では、細胞表面マーカーの回復に差は見られなかった。一方、ミニ移植中の中ても Anti-Thymocyte Globulin

(ATG) 使用群において、T リンパ球特に CD4 陽性 T リンパ球の回復に遅れが認められた。NK 細胞の回復も同様に遅れが認められた。各種刺激に対する細胞内サイトカインの反応性は、全ての群間での差は認められなかった。細胞内サイトカインに影響を与える因子として、GVHD、ウイルス感染症さらにそれらに対する治療が大きいことが示唆された。サイトメガロウイルスライセートを刺激後物質として用いた細胞内サイトカインの検討結果は、テトラマーやエリスポット法による解析結果と相関していることが明らかとなった。

D 考察

ATG 使用群で CD4 陽性 T 細胞の回復が遅れてくるのは、ATG 使用群で cGVHD が少ないという現象に関係すると考えられる。ATG 使用群で NK 細胞の回復が遅れる原因およびその影響に関しては現時点では不明である。今後、この現象の臨床的意味合いを検討していきたい。細胞内サイトカイン測定の評価に関しては、臨床症状との照らし合わせを含めたさらに詳細な解析が必要である。

E 結論

通常移植とミニ移植間では、移植後免疫回復において差は認められなかった。一方、ATGの使用は免疫系の再構築を遅延させるもっとも大きな因子と考えられた。刺激後の細胞内サイトカインの測定では、ウイルス感染症との関連性は認められたが、その他の臨床症状との関連性に関してはさらに詳細に検討する必要がある。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表

1 論文発表

Hama S, Heike Y. et al Changes in the epithelium of Rathke's cleft cyst associated with inflammation Journal of Neurosurgery, J Neurosurg 96 209-216, 2002

Hosokawa M, Heike Y. et al Preparation of purified, sterilized adenovirus vectors using albumin Journal of Virological Methods J Virol Methods 103 191-199, 2002

Shirakawa K, Heike Y. et al Hemodynamic Mimicry and Angiogenesis of inflammatory breast cancer xenograft Cancer Reseach, 62 560-566, 2002

Shirakawa K, Heike Y, et al Tumor-infiltrating endothelial precursor cells in inflammatory breast cancer International Journal of Cancer, 20 344-351, 2002

Kobayashi H, Heike Y. et al Rapid accumulation and internalization of radiolabeled herceptin in an inflammatory breast cancer xenograft with vasculogenic mimicry predicted by the contrast-enhanced dynamic MRI with the macromolecular contrast agent G6-(1B4M-Gd)(256) Cancer Research, 62 860-866, 2002

Shirakawa K, Heike Y. et al Vasculogenic mimicry and pseudo-comedo formation in breast cancer International Journal of Cancer, 99 821-828, 2002

Lee JJ, Heike Y. et al The role of PGF2 in the differentiation of dendritic cells How do dendritic cells influence T-cell polarization and chemokine receptor expression Stem Cells 20 448-459, 2002

Kojima R, Heike Y. et al Induction of graft-versus-autoimmune disease (GVA) effect against refractory psoriasis by complete donor-type chimerism and graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation Bone Marrow Transplantation, in press, 2003

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

「細胞免疫療法の臨床評価に関する研究」

分担研究者 國頭 英夫 国立がんセンター中央病院 総合病棟部医長

研究要旨

ミニ移植における有効性のエンドポイントについて検討を行い、内部でのコンセンサスを得た。今後、他グループとの共通の指標とすることが重要になる。

A 研究目的

固形癌に対するミニ移植（とくにその早期臨床試験段階）において、抗腫瘍効果を表す適切な指標を作成する。

B 研究方法

現在まで国立がんセンター中央病院などで施行された固形癌に対するミニ移植症例の臨床経過を review し、その抗腫瘍効果（腫瘍マーカーおよび画像的な縮小/増大）の経時的な特徴をまとめてこれを臨床試験における代表値（指標）に集約する方法を検討する。

（倫理面での配慮）

各症例に対しては、この治療法が臨床試験であること、ならびにそれに伴う事項について十分な説明がなされ、自発的な文書での同意が取れている。その同意には、治療経過などにつき将来的な研究に応用されることも含まれている。

C 研究結果

① 抗腫瘍効果の測定方法

化学療法と同一の基準を用いることが最も妥当であると結論した。何故ならば、化学療法において、抗がん治療の効果を客観的に評価する試みは 1960 年代に始

まっており、現在では世界的基準が作成されている。この世界基準を使用することで、化学療法との治療成績の比較が可能であり、また、施設間格差の無い普遍的な評価が可能と考えたからである。

化学療法の世界的基準は、1979 年には WHO 効果判定規準が発表されているが、評価対象病変の選択基準、治療効果の総合判定方法が曖昧なため、臨床研究グループにより効果判定方法が微妙に異なるという事態を招いた。また、CT や MRI が普及していなかった時代に作成された規準であるため、時代背景にあわせた新規準を作成する必要性が指摘されるようになり、2000 年にアメリカの NCI 主導の研究グループが Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST criteria) を論文発表している。今回、我々は、固形腫瘍の専門医と議論し、ミニ移植後の効果判定においては、今後世界的基準となる RECIST criteria に準じた効果判定方法を採択した。

② 免疫療法の臨床試験に関する問題点

上に述べたとおり、我々は RECIST criteria に準じた効果判定方法を採択した。しかし、我々は、固形腫瘍に対するミニ移植の臨床第 I 相試験を施行し、腎がんに対する第 II 相試験を準備する過程

て、免疫療法の効果判定においてRECISTと全く同じ方法を取ることは不可能であることに気づいた。たとえば、腎がんに対するインターフェロンのような免疫療法においては、次のような化学療法とは異なる特徴がある。第一に、結果的に奏効した例であっても、腫瘍縮小がみられるまでの時間が長く、至適効果判定時期が不明である。また、この点に関連するか、効果発現までの間に腫瘍増大が見られることもある。この点は、一度PDと判定したならば効果判定を終了する化学療法の体系とは全く異なる。

これらの点は、固形腫瘍に対するミニ移植の効果判定においても同様に問題となる。海外の報告でも、自験例（腎がん1例、大腸がん1例でPR）でも、縮小が得られたケースでこれらには、移植後数ヶ月（腎癌では約4ヶ月）たってからの縮小であった。インターフェロンの場合と同様に、腫瘍縮小が見られるまでの時間が化学療法と比べて明らかに長いので、移植後に増悪と判断された症例も、観察期間中は適宜効果判定を行う必要が考えられる。しかし、最終的な総合効果を、どのように評価すべきであるか、また、どの時点を基点として腫瘍増大率、縮小率を測定すべきかについて全く不明であった。本質的には、移植後の最大径と比較して縮小が見られるならば、同種免疫療法による効果があったと解釈できる。しかし、治療開始時と比較して腫瘍増大があるならば、これを奏効例として計上すると治療の有効性を過大評価する恐れがあるし、とこを持って最大径とするかという新たな問題点が生じ、客観性・再現性を欠く可能性が高い。一方、化学療法時と同様に、最縮小時と比較して増大があった場合（RECISTでは長径和が2割以上増大または新病変出現）をPDと判定してしまうと、このあとに更なる腫瘍縮小が得られる場合がありうるので、治療の有効性を過少評価する恐れがある。実際、腎がん（固形腫瘍）に対する造血幹細胞移植では、移植後のトナーリンパ

球輸注などの後治療や、GVHDに対する免疫抑制剤投与によって腫瘍が増大縮小を繰り返す可能性がありえるので、評価は非常に複雑となる。以上から、無増悪生存期間や全奏効期間などのレスポンス持続期間の記載は、不可能もしくは無意味となる臨床経過がありうるのである。以上の議論より、現段階では次のように結論した。ミニ移植後の腫瘍縮小効果は緩徐に現れることが理論上推測され、また実際の症例でも示唆されているため、一定の時期（移植後半年及び1年）での腫瘍縮小例もしくは非増悪例の割合を代替指標として用いる方法を考えた。この場合、上記の理由で、レスポンスの持続期間の記載は行わない。重要なことは、皆が共通の同じ指標を持つことであり、グループ間のコミュニケーションを持たねはならないと考える。

D 考察

これはミニ移植のみならず、今後期待される腫瘍ワクチン療法、樹状細胞療法などの免疫療法においても大きな問題となる点であろう。早期臨床試験において抗腫瘍効果が有望とされた時には、これが延命に結びつくか否かの検討が必要である。これは化学療法の検討の場合と同様に、第III相において生存期間で判断することが出来る。むしろ免疫治療においては、早期臨床試験で有効な治療法及び効果が期待できる腫瘍系をいかにしてスクリーニングするかが最大の問題といえる。

E 結論

免疫療法における早期臨床試験の方法論は、これからもデータに基づき議論を重ね、修正を加えて確立すべき分野であると考えられるが、共通の指標をもつこと

かきわめて重要である。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表 なし

H 知的財産権の出願・登録状況

1 特許取得 なし

2 実用新案登録 なし

3 その他 なし

分担研究報告書

「膵癌に対するミニ移植の開発に関する研究」

分担研究者 高橋 俊雄 東京都立駒込病院院長

研究要旨

膵がんなど難治消化器がん10例に対し、骨髄非破壊的造血幹細胞移植（ミニ移植）を行いGVT効果を初めて確認し、一部の症例では腫瘍縮小、胸・腹水の減少、疼痛軽減などの臨床効果が得られた。GVHDは重篤な副作用であり、今後は如何にしてGVHDを抑えGVT効果を引き出すかが大きな課題である。

A 研究目的

膵がん、スキル胃がん、転移性消化器がんなどは、外科療法、化学療法、放射線療法など現在のかん治療法においては、その根治は極めて困難である。従って、これらの難治性消化器がんの新しい治療法の開発はかん治療成績向上のための緊急の課題である。本研究ではこれらの難治性消化器がんを対象として、これまでにない同種造血幹細胞移植を行いその安全性と有効性について検討し、難治がんの新しい治療法の開発を目的としている。

B 研究方法

切除不能膵がん、スキルス胃がん、再発消化器がんなど10例の難治性消化器がんを対象として、HLAの一致した同胞にG-CSFを投与後、末梢血造血幹細胞を採取した。患者の前処置はcyclophosphamide, fludarabine投与による骨髄非破壊的前処置を行い、トナーからの造血幹細胞を移植した（以下ミニ移植）。移植後患者にはcyclosporineの投与を行い、GVHD、GVT効果をみながら、本剤の投与中止や再開を行った。CT Scan, 腫瘍マーカー等により臨床効果を検討すると共にT cell chimerism, Myeloid full chimerismと

GVHD, GVT効果を検討した。

本研究の開始に当たっては、2001年3月6日の東京都立駒込病院倫理委員会において、「固形がんに対する骨髄非破壊的同種造血幹細胞移植の臨床第2相試験」として本研究が承認された。患者には十分なインフォームトコンセントがなされ、書面による承諾書が得られている。

C 研究結果

切除不能膵がん5例、スキルス胃がん再発2例、直腸がん肝・肺転移1例、切除不能胆道がん2例、計10例にミニ移植を行った。全例において幹細胞生着に成功した。T cell full chimerismは移植後15日、myeloid full chimerismは移植後29日でほぼ100%であった。T cell full chimerismに達した時期に、CT scan上、腫瘍縮小が始まった例が膵がん2例、腹水または胸水減少がみられた例が胃がん1例、膵がん1例に認められた。CEAまたはCA-19-9がミニ移植により低下した例が4例に認められた。しかし、このうち3例においてcyclosporineまたはprednisolone投与後に増加に転じた。これら例で再度免疫抑制剤の投与を中止すると、腫瘍マーカーは再度低下した。臨床

効果は PR 1 例、SD 4 例、PD 4 例、NE 1 例であった。がん死 4 例、現在生存中のもの 4 例である。がん進行と重なり死因を判定することか難しい例もあるか、明らかなGVHDによる死亡はない。急性GVHDは4例に出現し、Grade II, 2例、Grade III, 2例で発現部位は、皮膚、肝、腸管である。慢性GVHDは広範皮膚発疹1例である。

腫瘍縮小のみられた膵がんの1例は、移植7日目にT cell chimerismが確認され、10日目には移植前に認められた腹・背部激痛は劇的に消失し、モルフィンの投与を中止した。その後も腫瘍は縮小を続け、急性GVHDも発現せず60日後に無症状にて退院した。cyclosporine 投与は移植100日て中止した。CT scan 上、移植120日後80%の腫瘍縮小が認められた。移植120日頃から慢性GVHDが皮膚に出現したが、軽度で外来通院で加療を行い患者のQOLは良好であった。移植320日頃から、慢性GVHDとして広範囲の皮膚発疹と肝障害が出現した。cyclosporine の投与を再開したところ、CT scan 上やや腫瘍の増大を認めた。再度 cyclosporine 投与を中止したところ、腫瘍は再び縮小した。しかし、移植349日に突然痙攣発作、意識消失をきたし脳出血様症状で死亡した。

D 考察

これまで固形がんに対するGVTE効果に関しては、腎細胞がん、乳がんなどについての報告はあるが、難治消化器がんに対するGVTE効果に関する報告はない。今回、難治消化器がん10例に対してミニ移植を行ったところ、明らかにGVTE効果と考えられる例を膵がん、胃がん、直腸がんて確認することができた。前述の

膵がん縮小例ては、T cell full chimerismと同時に腫瘍縮小が始まり、長期にわたり縮小が続いた。これは前処置による縮小効果とは考えがたくGVTE効果と考えられる。また、膵がん、胃がん、直腸がんの腫瘍マーカーの変動をみると、T cell full chimerism と時期を同じくして低下し、免疫抑制剤やステロイドの投与を契機に上昇し、これを中止すると再度低下する。GVHDの発現とGVTE効果との関連が示唆される。

ミニ移植の最大の問題は、GVHDである。いかにしてGVHDの発現を最小限に抑制し、GVTE効果を引き出すかが今後の課題である。今回の研究結果をみると、急性GVHDの発現がなくとも長期の腫瘍縮小が得られた膵がん例やGVHDを起こさず腫瘍マーカーの低下をきたしSDの状態を長期に続ける症例が認められた。これらの症例のドナー、患者組織、腫瘍の組織適合遺伝子の解析は、GVHDとGVTE効果の差異を明らかにするかも知れない。

E 結論

- 1 膵がんなど難治消化器がん10例に対し、骨髄非破壊的造血幹細胞移植(ミニ移植)を行いGVTE効果を初めて確認した。
- 2 一部の症例ては腫瘍縮小、胸・腹水の減少、疼痛軽減などの臨床効果が得られた。
- 3 GVHDは最も重篤な副作用であり、今後は如何にしてGVHDを抑えGVTE効果を引き出すかが大きな課題である。
- 4 GVHDが発現せず長期腫瘍縮小や長期SDもみられた症例の、ドナー、患者組織、がんの組織適合遺伝子の解析はGVHDとGVTEの差異を明らか

にする可能性がある。

- 5 骨髄非破壊的造血幹細胞移植は、難治固形がんの新しい治療の modality となる可能性がある。

F 危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表

1 論文発表

Omuro Y, Matsumoto G, Takahashi T et al Regression of unresectable pancreatic tumor following non-myeloablative peripheral-blood stem cell transplantation Bone marrow transpl, in press

Takahashi T, Omuro Y, Sasaki T et al Non-myeloablative stem cell transplantation for unresectable pancreatic cancer Lancet, 投稿中

高橋俊雄 壊的同種造血幹細胞移植（ミニ移植）による悪性腫瘍の治療 B10ベンチャー, 35-38, 2003 羊土社

2 学会発表

高橋俊雄 難治癌に対する挑戦 切除不能膵がんに対する壊的同種造血幹細胞移植（ミニ移植）、第102回日本外科学会総会 特別企画 4/12/2002

小室泰、松本岳、高橋俊雄 他 高度進行膵癌に対する新しい治療戦略、第61回日本癌学会総会 10/2/2002

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

分担研究報告書

「消化器癌に対する同種細胞免疫療法の開発に関する研究」

分担研究者 山上 裕機 和歌山県立医科大学 第二外科教授

研究要旨

膵癌などの難治性消化器固形悪性腫瘍に対し、ミニ移植を行い、その安全性と有効性を確立するためミニ移植後、血清中の TNF-a、IL-2、IL-6、白血球数、白血球分画、CD4/CD8 比を測定する。血液悪性腫瘍に対するミニ移植は多数の報告例があるが、固形腫瘍に対するミニ移植の報告は少なく、固形腫瘍に対するミニ移植の安全性と有効性の予測のために full match 症例での血清中サイトカイン測定は必要である。

A 研究目的

膵癌などの難治性消化器固形悪性腫瘍に対し、ミニ移植を行い、その安全性と有効性を確立するための1手段として、ミニ移植時の血中のサイトカイン濃度を測定し、GVHDを含めた副作用や抗腫瘍効果の判定基準となるか否かを検討する。

B 研究方法

固形悪性腫瘍に対するミニ移植の報告例は腎細胞癌にみられるものの、消化器癌などの固形腫瘍に対しての報告は稀少で full match 以外の安全性の確認はできないのが現状である。そこでまず、full match にてミニ移植を行い、ミニ移植後、1日目、3日目、7日目、1ヵ月後、キメラ直後、腫瘍縮小時、GVHD出現時、その他有害事象発症時等に採血を行い、血清中の TNF-a、IL-2、IL-6、白血球数、白血球分画、CD4/CD8比を測定する。

C 研究結果

サイトカイン測定キットを購入し、血清中のサイトカインの測定を即時行える体制を整えた。現在、他に有効な治療法がなく full match でミニ移植を行うことのできる固形腫瘍症例を検索している状況である。

D 考察

血液悪性腫瘍に対するミニ移植は多数の報告例があるが、固形腫瘍に対するミニ移植の報告は少なく、full match ではなく 1 miss で行った際の安全性は皆無と言ってよい。また、効果細胞も不明で、血液疾患に対してステロイドを使用しても腫瘍の再増殖に関係ないが、腎癌などではステロイド使用をきっかけに再増殖をきたす症例の報告もあり、固形腫瘍と血液腫瘍とは全く別のものとして扱ったほうがよいと考える。

E 結論

固形腫瘍に対するミニ移植の安全性と有効性の予測のために full match 症例での血清中サイトカイン測定は必要である。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表 なし

H 知的財産権の出願・登録状況

1 特許取得 なし

2 実用新案登録 なし

3 その他 なし

分担研究報告書

「固形がんに対する同種細胞免疫療法における腫瘍細胞効果規定因子の検討」

分担研究者 富田 善彦 山形大学医学部 泌尿器科学講座教授

研究要旨

転移を有する腎細胞がん患者に対し本邦で施行した非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植症例につき、その臨床経過等を調査し、本邦における同治療の現状と問題点、今後の課題について検討した

A 研究目的

本療法の適応と考えられる固形腫瘍のうち、これまでに最も施行症例数が多く、奏効数も多い腎細胞癌について本邦における施行症例の患者背景、臨床因子、有効性を含む臨床経過を調査し、本療法の確立に向けての問題点、課題について検討し、実施計画に反映させることを目的とする

B 研究方法

これまでに、本邦において転移を有する腎細胞がん患者に骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植療法を行ったと報告した施設に対し、その患者背景、臨床因子、有効性を含む臨床経過についての調査協力を依頼し、その結果を集計し全体的な検討を行った。調査依頼施設は以下の通りである。札幌医科大学附属病院、岩手医科大学附属病院、東北大学附属病院、新潟大学附属病院、国立がんセンター中央病院、慈恵医大青戸病院、金沢大学附属病院、京都府立大学附属病院、京都大学附属病院、大阪市立大学附属病院、和歌山日赤医療センター。これら施設の治療実施担当者を通して調査し、その集計、検討を行った。また、本療法の特徴として、短期間に病勢の変動が観察されることも多いために平成14年中の病状についても経過観察、および報告を依頼し、おおむね平成14年12

月1日の時点での結果に基づき本年度の報告とした

C 研究結果

総施行症例数は24例である。男性15例、女性9例、年齢は14歳から73歳平均47.7歳であった。1例を除いて同胞をドナーとし、同胞ドナーはいずれもHLAフルマッチの症例であった。同胞以外をドナーとした症例は母親をドナーとし、3ミスマッチの症例であった。前処置はフルタラピンは全例に使用されていたものの、併用薬剤の種類は様々で、あり4例では全身放射線照射療法が併用されていた。GVHD予防には20例にシクロスポリンAが4例にはFK506が基本的に使用されており、これに加えて11例にメソトレキセートが併用されていた。1例を除き移植後にドナー型の完全キメラを達成していた。臨床効果(best response)による内訳は完全寛解0例、部分寛解3例、不変9例、進行12例であった。最終効果は完全寛解0例、部分寛解2例、不変3例、進行16例、治療関連死3例であった。best responseが不変から最終効果が進行となった4症例中3症例は生存し、うち2例では移植後644および860日を経過しており、腫瘍の進行はきわめて緩徐と考えられる。

D 考察

本研究における本邦での腎細胞がん患者に対する骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植療法の調査検討では、完全キメラは1例を除き達成されているものの、腫瘍縮小の観点からの効果は1割強の患者に認められたに過ぎない。この原因としては、欧米での臨床研究と比較して、幅広い症例に対して施行されていることが挙げられる。これには代替療法がないために本療法が施行されたと推測される症例が多く存在したことが一因として考えられる。また、前述のごとく、これら本邦施行例はすべてサイトカイン投与等に抵抗性の症例であり、腫瘍縮小効果は見られないものの、本治療後に腫瘍の進行の程度が極めて緩徐となった症例も存在し、腫瘍細胞の増殖抑制効果が認められるとも考えられる。この研究調査ではまた各施設で異なった治療法を取っているところも明らかとなった。このことは本療法自体の有用性の判定にも支障をきたしていると考えられる。

E 結論

腎細胞がん患者に対する骨髄非破壊的前処置療法を用いた同種造血幹細胞移植療法が有効であるか否かをこれまでの本邦施行例から結論するのは困難である。適切な症例の選択を行い本研究におい策定される実施計画に従い、共通のプロトコールで実施し、本治療法の確立に向けて研究を遂行する必要性が改めて確認された。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表

学会発表

第19回日韓泌尿器科学会ランチョンセミナー

(平成14年9月27日・福岡市)

「Cell therapy to advanced renal cell cancer」

第52回西部腎学会ワークショップ

(平成14年10月5日・和歌山市)

「進行性腎細胞癌に対する細胞療法」

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

「転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討に関する研究」

分担研究者 公文 裕巳 岡山大学大学院医歯学総合研究科 泌尿器病態学教授

研究要旨

進行腎細胞癌の 12 例に対して、患者本人と同胞の HLA 検査を行った。5 例で HLA の一致が認められ、その内、1 例に対して平成 15 年 2 月にミニ移植を行った。

A 研究目的

インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例に対して、HLA 一致同胞をドナーとする骨髄非破壊的前治療併用同種末梢血幹細胞移植（ミニ移植）を行い、その有効性と安全性を検討する。

B 研究方法

インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例と同胞の HLA 検査を行う。HLA 一致同胞をドナーとして、ミニ移植を行う。

「同種末梢血幹細胞移植」については、平成 7 年 2 月に岡山大学医学部倫理委員会承認されており、さらに、「難治性固形癌に対する骨髄非破壊移植前治療を用いた同種末梢血幹細胞移植の有効性、安全性を検討する臨床研究」については、平成 13 年 2 月に岡山大学医学部附属病院治験審査委員会承認されている。

C 研究結果

進行腎細胞癌の 12 例に対して、患者本人と同胞の HLA 検査を行った。5 例で HLA の一致が確認された。その内、1 例（64 歳女性）に対して、妹（56 歳）をドナーとして、平成 15 年 2 月にミニ移植を行った。前処置はエントキササンとフルダラピンを用い、移植後の免疫抑制にはメソトレキセートとサイクロスポリンを使用した。移植後 2 週目には生着が確認され、重篤な有害事象も認められていない。

D 考察

転移を有する腎細胞癌に対しては、まず、手術療法が考慮される。単発の肺転移等では、摘出術後長期間の生存例が認められる。

しかし、転移巣が多発している症例では、たとえ完全に摘出てきたとしても、その後の再発率は高い。手術が不可能な転移に対しては、インターフェロン α などのサイトカイン療法が行われる。しかし、インターフェロン α の有効率は 15%程度と報告されている。インターフェロン α が無効である進行腎細胞癌症例に対して、インターロイキン γ やインターフェロン γ が使用されるが、有効率は低く、これらの症例の予後は不良である。したがって、これら症例に対する新しい治療法が望まれている。

腎細胞癌に対するミニ移植は、従来の治療法に抵抗性の症例に対して、高い有効率が欧米より報告されている。今回、本臨床研究で腎細胞癌に対する有効性と安全性が本邦の症例を対象に検討されることは、意義深い。

本年度は、1 例にのみミニ移植を行ったが、現在までに重篤な有害事象を認めていない。本症例の経過を観察するとともに、症例を追加してミニ移植の有効性と安全性を検討したい。

E 結論

本年度は 1 例にミニ移植を行った。症例を追加してミニ移植の有効性と安全性を検討したい。

F 健康危険情報 特記すべき事なし

G 研究発表

白崎義範、公文裕巳、他 腎細胞癌転移巣に対する手術療法の検討 第 90 回日本泌尿器科学会総会 東京都
Kurose K, Kumon H et al Reduced

expression of reic gene in renal cell carcinoma 第 96 回米国泌尿器科学会
オーランド

Kaku H, Kumon H et al 14Q24-31 is a new suppressor gene locus of renal cell carcinoma-inter-alu long pcr genomic scan and microsatellite analysis- 第 96 回米国泌尿器科学会 オーランド

H 知的財産権の出願・登録状況

- 1 特許取得 なし
- 2 実用新案登録 なし
- 3 その他 なし

分担研究報告書

「腎細胞癌に対するミニ移植の臨床的研究」

分担研究者 並木 幹夫 金沢大学大学院医学系研究科 がん医科学専攻
がん制御学講座集学的治療教授

研究要旨

これまでに3例の転移性進行性腎細胞癌に対してミニ移植を施行した。すべてに完全キメラが達成されたか、抗腫瘍効果は3例ともPDであった。

A. 研究目的

転移固形腫瘍を対象としたミニ移植の安全性と有効性の検討

B. 研究方法

3例の転移性進行性腎細胞癌に対してミニ移植を施行した。1例目は右腎摘除17年後の骨および肺転移再発症例、2例目は左腎原発巣切除不能および肝、副腎、胸膜転移症例、3例目は左腎摘除、骨転移巣切除半年後の骨、肺、副腎転移再発症例である。前治療としてCPA/FDRを投与し、免疫抑制にはCyAを用いた。

(倫理面への配慮)

金沢大学医学部医の倫理委員会へ申請し承認された。

C. 研究結果

完全キメラはそれぞれ94、40、52日で達成された。急性GVHDは症例2、3においてそれぞれ52、36日に、慢性GVHDは症例1、3においてそれぞれ183日、75日に認められた。抗腫瘍効果に関しては移植直後より、腫瘍の増大傾向が認められたか、症例1および3においてそれぞれ212日、261日で一時的に腫瘍縮小効果が観察され

た。最終的な抗腫瘍効果は3例ともPDであった。予後については1、2例目はそれぞれ移植後531日(肺炎)、69日(癌死)で死亡、3例目は700日経過し生存している。さらに症例1、2の剖検所見ではミニ移植後の腫瘍組織内にTリンパ球の浸潤像が認められた。

D. 考察

これらの症例はいずれもIFN/IL-2抵抗性の進行例であり、現時点ではミニ移植以外に適切な治療法はないものと思われ、治療前の病勢を考慮すれば、症例1、3については腫瘍増殖に対してある程度の抑制効果が認められたと判断される。さらに症例1、2の剖検結果から腫瘍組織内での細胞性免疫の関与を示唆する所見が得られた。一方、長期に渡り多彩な症状を呈する慢性GVHDは、時に摂食障害を来し、患者のQOLを保つうえで大きな課題となることか判明した。またGVHDの管理に必要な免疫抑制剤の投与は、腫瘍の増殖を促すことが観察され、抗腫瘍効果の維持を計るうえでもGVHDの管理が治療の成否を決める重要な鍵であることが判明した。従って今後の課題はいかにGVHDを発症させずに、患者を免疫抑制状態から離脱させ抗腫瘍効果を得るかにある。これまで我々が行ってきた前治療および免疫抑制の