

200300449A

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(がんの臨床研究)

<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 15 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 16 (2004) 年 4 月

## 【目次】

### I. 総括研究報告

- P 1～6 高上 洋一 / 国立がんセンター中央病院  
『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

- P 7～9 平家 勇司 / 国立がんセンター研究所  
『同種移植後免疫回復の解析に基づいた診断法・治療法の開発研究』
- P 10～11 國頭 英夫 / 国立がんセンター中央病院  
『細胞免疫療法の臨床評価』
- P 12～14 高橋 俊雄 / 東京都立駒込病院  
『膀胱に対するミニ移植の開発研究』
- P 15～16 山上 裕機 / 和歌山県立医科大学  
『消化器癌に対する同種細胞免疫療法の開発研究』
- P 17～18 富田 善彦 / 山形大学医学部  
『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』
- P 19～20 公文 裕巳 / 岡山大学大学院  
『転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討』
- P 21～22 並木 幹夫 / 金沢大学大学院  
『腎細胞癌に対するミニ移植の臨床研究』
- P 23～24 三木 恒治 / 京都府立医科大学  
『転移性腎細胞癌を対象としたミニ移植の検討』
- P 25～28 藤岡 知昭 / 岩手医科大学  
『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』
- P 29～30 岡島 英二郎 / 国立がんセンター中央病院  
『泌尿器癌に対する同種細胞免疫療法の研究』
- P 31～33 豊嶋 崇徳 / 岡山大学医学部附属病院  
『泌尿器癌に対する同種細胞免疫療法の研究』

### III. 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

『 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** 転移性の腎癌患者において、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、新GCPに則った厳正な医師主導臨床試験を行って評価する。本研究において治療の有効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、固形腫瘍に対する移植治療領域では初めて、標準操作手順書(SOP)などの様々な必須書式を作成して症例登録を開始した。並行して行う膀胱癌や大腸癌などの固形腫瘍患者を対象とした当院における第I相臨床試験に43例を登録し、一部では腫瘍縮小効果を観察した。

**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・名誉院長)  
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)  
豊嶋崇徳(岡山大学医学部附属病院・助手)

**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療が期待できない転移性の腎癌患者を対象として、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初めて新GCPに準拠した多施設共同第I/II相臨床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国民医療に貢献すると同時に、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。

難治性の腎癌や膀胱癌などの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、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ドナー由来のリンパ球などを介して発生するGVT効果と呼ばれ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。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。このため、前処置関連毒性を少なくすることで、治療の安全性を著しく高めたミニ移植が開発された。本研究では、難治性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が、この実施に必要な各種のSOPと効果判定基準を策定することも重要課題と考える。国立がんセンター中央病院においては、これらの手順を定める作業と、多施設研究の方向性を探る目的の単一施設臨床試験を継続する。

## 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(第 I/II 相臨床試験、予定登録症例 30 例)、あるいは膀胱癌や悪性黒色腫などの固形腫瘍患者(当院の第 I 相臨床試験)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)とブスルファン(4 mg/kg x 4 日)、並びに抗胸腺リンパ球抗体(ATG) 2.5 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冻して輸注する。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。腎癌に対する第 I/II 相試験は新 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。その他の癌に対する第 I 相試験については、国立がんセンター中央病院に専任のデータマネージャーを配して設置したデータセンターで厳正に執り行う。具体的には、試験計画書と症例報告書のほかに、データベースの構築、画像と病理検体などの回収ルート設定、病理並びに放射線の中央診断などに関する SOP などを作成する。また、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し、施設倫理委員会の承認後に患者登録を開始する。

### <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ベ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

本年度は、医師主導臨床試験と医薬品、医療用具などを提供する企業や検査会社などとの連携体制、契約形態の有り方を見直して標準化を試みた。医薬品や医療用具、生物由来製品などの無償・有償提供の場合の条件、手続きとそれに伴う利害関係の調整手続きを明確化する手順も示すなど、上記の新 GCP に基づいた種々の試験手順を確立させることができた。その後、患者登録を開始した結果、現在、腎癌に対する治験には 2 例を本登録し、また膀胱癌や大腸癌などの固形腫瘍患者を対象とした第 I 相臨床試験には 43 例を登録して継続中であり、腎癌のほか大腸癌などの癌種で腫瘍縮小効果を観察している。造血器腫瘍患者においてはミニ移植の妥当性は確立しつつあり、現在までに国立がんセンター中央病院でミニ移植を行った 196 名の 1 年生存率は 56% である。一方、このように予後が極めて不良の転移性固形腫瘍患者における 1 年生存率は 43% であった。造血器腫瘍患者の多くが移植時には寛解期あるいは腫瘍増殖が緩やかであったのに対して、固形腫瘍患者の多くが急速進行性の腫瘍に罹患していたことを考えるならば、現時点では治療の安全性に問題は少ないと考える。同時に、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。

## D. 考察

本研究では厳正なデータ管理を行うため、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のない多くの患者に対する根治的治療法を開発することは意義深い。本研究において治療の有用性が確認された場合には、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と考える。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、今後の特異的免疫療法の開発にも応用可能である。

本研究において転移性腎細胞癌に対するミニ移植の有用性が示唆された場合には、その後第 III 相臨床試験に進む予定である。一方、現時点では、どのような固形腫瘍が同種免疫療法の適応であるかは定まっていない。遠隔転移を伴う固形腫瘍患者の予後が極めて不良であることを考慮し、本研究では腎癌以外の進行期固形腫瘍の全てを対象とした第 I 相臨床試験を行い、その結果に基づき、将来的には治療効果が期待できる癌種毎に、第 II 相臨床試験を行う。このためには本課題で築く臨床試験基盤が必須のものとなる。

#### E. 結論

抗癌剤などの従来の治療に抵抗性の腎癌や膀胱癌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。本研究は、厳正な臨床試験を行って、同種免疫反応を利用した新しい概念に基づいた治療法を開発を試みるものであり、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。また、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甚大と考える。

#### F. 健康危機情報

現在までのところ、試験の中止に関わるような重大な有害事象の発生は認めていない。医薬品の適応拡大を目的とした医師主導臨床試験を計画・実施するうえでは、安全性情報の取扱いが最も重要な課題となる。このような質の高い臨床試験で得られる安全性情報は、将来的に国内の共有情報としてデータベース化することにより、規制当局への報告の際の重要なデータソースになると共に、我々自身に重要な意味を持って還元される貴重なデータとなり得る。また、これは、抗癌剤を含めた医薬品、医療機器、及び生物由来製品などの臨床開発、適正使用に大きく寄与すると考えられ、海外との情報交換も可能な形式での蓄積が必要不可欠であるため、本研究の重要課題の一つとして取り組む。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

1. 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.
2. 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.
3. Matsubara H, **Takaue Y.** *et al.* Possible benefits of high-dose chemotherapy as intensive consolidation in patients with high-risk rhabdomyosarcoma who achieve complete remission with conventional chemotherapy. *Pediatr Hematol Oncol*, 20:201-210,2003.
4. Kim SW, **Takaue Y.** *et al.* Feasibility of Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE) II and III score-based screening in patients receiving allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Transplantation*, 75:566-570,2003.
5. Kami M, **Takaue Y.** *et al.* Allogeneic hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell leukemia/lymphoma. *Br J Haematol*, 120:304-309,2003.
6. Matsubara H, **Takaue Y.** *et al.* Successful treatment of meningococcal meningitis caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with intrathecal vancomycin in an allogeneic peripheral blood stem cell transplant recipient. *Bone Marrow Transplant*, 31:65-67,2003.
7. Kato K, **Takaue Y.** *et al.* USA2-13, an antigen originally found on mouse NK-like T cells, is an early inducible cell surface antigen during lymphoid activation. *Cell Immunol*, 221:27-36,2003.
8. Asada-Mikami R, **Takaue Y.** *et al.* Increased expansion of Va24<sup>+</sup> T cells derived from G-CSF-mobilized peripheral blood stem cells as compared to peripheral blood mononuclear cells following  $\alpha$ -galactosylceramide stimulation. *Cancer Sci*, 94:383-388,2003.
9. Mineishi S, **Takaue Y.** *et al.* Impact of GVHD in reduced-intensity stem cell transplantation for

- patients with hematological malignancies. *Br J Hematol*, 121:296-303,2003.
10. Tanimoto T, **Takaue Y.** *et al.* High complete response rate after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with reduced-intensity conditioning regimens in advanced malignant lymphoma. *Bone Marrow Transplant*, 32:131-137,2003.
  11. Kojima R, **Takaue 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 Transplant*, 32:439-442,2003.
  12. Saito T, **Takaue Y.** *et al.* Immune reconstitution following reduced-intensity transplantation with cladribine, busulfan, and anti-thymocyte globulin: serial comparison with conventional myeloablative transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:601-608,2003.
  13. Urahama N, **Takaue Y.** *et al.* Transfusion-related acute lung injury (TRALI) after the infusion of bone marrow cells in a patient with acute lymphoblastic leukemia. *Transfusion*, 43:1553-1557,2003.
  14. Kami M, **Takaue Y.** *et al.* Development of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation (RIST) in the National Cancer Center Hospital, Japan. *Therapeutic Apheresis Dialysis*, 7:318-328,2003.
  15. Yamamoto R, **Takaue Y.** *et al.* Late hemorrhagic cystitis after reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:1089-1095, 2003.
  16. Hamaki T, **Takaue Y.** *et al.* Non-myeloablative hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of adult T-cell lymphoma in a patient with advanced hepatic impairment. *Leuk Lymphoma*, 44:703-708, 2003.
  17. Imataki O, **Takaue Y.** *et al.* Life-threatening hypothyroidism associated with administration of cyclosporine in a patient treated with reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation for metastatic renal cell carcinoma. *Transplantation*, 75:898-907, 2003.
  18. Nakai K, **Takaue Y.** *et al.* Anti-thymocyte globulin affects the occurrence of acute and chronic graft-versus-host disease after a reduced-intensity conditioning regimen by modulating mixed chimerism induction. *Transplantation*, 75:2135-2143, 2003.
  19. Kim SW, **Takaue Y.** *et al.* Effects of selective decontamination of digestive tract on mortality and acquisition of resistant bacteria in intensive care: a randomized controlled trial. *Lancet*, 362:2118-2120, 2003.
  20. Kusumi E, **Takaue Y.** *et al.* Successful reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) with mismatched cord blood in a 70-year-old patient with severe aplastic anemia. *Bone Marrow Transplant*, 32:1111-1112, 2003.
  21. Zheng Y, **Takaue Y.** *et al.* Ex vivo manipulation of umbilical cord blood-derived hematopoietic stem/progenitor cells with recombinant human stem cell factor can up-regulate levels of homing-essential molecules to increase their trans migratory potential. *Exp Hematol*, 31:1237-1246, 2003.
  22. Hori A, **Takaue Y.** *et al.* Urgent need for a validated tumor response evaluation system for use in immunotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 33:255-256, 2004.
  23. Kawano Y, **Takaue Y.** *et al.* Cryopreservation of mobilized blood stem cells at a higher cell concentration without the use of a programmed freezer. *Ann Hematology* 83:50-54, 2004.
  24. Yamasaki S, **Takaue Y.** *et al.* Allogeneic peripheral blood stem cell transplantation from 2- or 3-loci-mismatched related donors in adult Japanese patients with high-risk hematologic malignancies. *Bone Marrow Transplant*, 33:279-289, 2004.
  25. Kamitsuji Y, **Takaue Y.** *et al.* Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced-intensity hematopoietic stem-cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. *Ann Hematol* (2003 Dec 19 [E-pub ahead of print]).
  26. Kami M, **Takaue Y.** *et al.* Gastrointestinal tract is a common target of invasive aspergillosis in patients

receiving cytotoxic chemotherapy for hematological malignancy. *Clin Inf Dis, in press.*

27. Hamaki T, Takaue Y. *et al.* Sustained molecular remission in a patient with CML in blastic crisis receiving dose-reduced hematopoietic stem-cell transplantation followed by early withdrawal of cyclosporine and prophylactic use of interferon-alpha. *Am J Hematol, in press.*
28. Hori S, Takaue Y. *et al.* Freeze-thawing procedures have no influence on the phenotypic and functional development of dendritic cells generated from peripheral blood CD14<sup>+</sup> monocytes. *J Immunother, in press.*
29. Kusumi E, Takaue Y. *et al.* Feasibility of reduced-intensity hematopoietic stem cell transplantation from an HLA-matched unrelated donor. *Bone Marrow Transplant, in press.*
30. Hori A, Takaue Y. *et al.* Development of early neutropenic fever, with or without bacterial infection, is still a significant complication after reduced-intensity stem cell transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant, in press.*
31. Hamaki T, Takaue Y. *et al.* Reduced-intensity stem-cell transplantation from an HLA-identical sibling donor in patients with myeloid malignancies. *Bone Marrow Transplant, in press.*
32. Mori T, Takaue Y. *et al.* Clinical significance of cytomegalovirus (CMV) antigenemia in the prediction and diagnosis of CMV gastrointestinal disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant, in press.*
33. Harashima N, Takaue Y. *et al.* Graft-versus-human T-cell leukemia virus type-I response in adult T-cell leukemia patients following non-myeloablative hematopoietic stem cell transplantation. *Cancer Res, in press.*
34. Hori A, Takaue Y. *et al.* Balance between acute graft-versus-host disease and graft-versus-tumor effect after reduced-intensity transplantation for metastatic renal cell carcinoma: Report of two cases. *Hematology Journal, in press.*
35. Imataki O, Takaue Y. *et al.* A nationwide survey of deep fungal infections and antifungal prophylaxis for patients undergoing hematopoietic stem-cell

transplantation (HSCT): Revisit of the Guidelines from the Centers for Disease Control and Prevention (CDC). *Bone Marrow Transplant, in press.*

36. Nakagawa T, Takaue Y. *et al.* Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity conditioning regimen for the treatment of metastatic renal cell carcinoma: single institution experience with a minimum 1-year follow-up. *Exp Hematol, in press.*
37. Tanimoto TE, Takaue Y. *et al.* Graft-versus-host disease and clinical outcomes after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with bone marrow or blood stem cells. *Br J Haematol, in press.*

## 2. 学会発表

1. Hori A, Kanda Y, Goyama S, Ohnishi Y, Komeno Y, Mitani K, Kishi Y, Ogawa S, Imataki O, Chiba S, Kojima R, Hamaki T, Sakiyama M, Kami M, Makimoto A, Tanosaki R, Takaue Y. Hirai H: Pravastatin for the treatment of refractory chronic GVHD: Prospective clinical and immunological evaluation from the Japan Hematology Oncology Clinical Study Group (J-HOCS). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2664).
2. Kojima R, Kami M, Tanaka Y, Kusumi E, Kanda Y, Mori S, Yoshioka S, Tajima K, Fujisawa S, Kanamori H, Morishima S, Sao H, Kasai M, Taniguchi S, Sakamaki H, Hirai H, Harada M, Takaue Y. Comparison of the outcomes following conventional hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) vs. reduced-intensity stem cell transplantation (RIST) in older patients with hematologic malignancies. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2707).
3. Sakiyama M, Kim SW, Kami M, Mori S, Makimoto A, Mineishi S, Takaue Y. Tanosaki R: Feasibility of collecting granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)-mobilized peripheral blood stem cells (PBSC) from donors aged over 50 years. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3569).

4. Kojima R, Kami M, Nannya Y, Kusumi E, Sakai M, Tanaka Y, Kanda Y, Miyakoshi S, Tateishi U, Kusumoto M, Mori S, Kato K, Mori T, Okamoto S, Taniguchi S, **Takaue Y**: Evaluation of late occurring invasive pulmonary aspergillosis (IPA) after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT) by high-resolution computed tomography (HR-CT). 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #3629).
5. Kusumi E, Tanimoto TE, Kami M, Hamaki T, Kim SW, Mori T, Etoh T, Tamaki T, Taniguchi S, **Takaue Y**: Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with a reduced-intensity regime for non-Hodgkin lymphoma: A retrospective survey of 112 adult patients in Japan. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2696).
6. Katayama Y, Kami M, Kusumi E, Katoh D, Yuji K, Miyakoshi S, Uchida N, Kamitani Y, Ohnishi Y, Murashige N, Kim SW, Mori S, Taniguchi S, **Takaue Y**: The central nerve system complications in the early course of reduced-intensity stem cell transplantation. 45th American Society of Hematology Annual Meeting, San Diego, December 6-9, 2003 (abstr #2628).

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得  
該当なし
2. 実用新案登録  
該当なし
3. その他  
該当なし



**研究要旨** 倫理審査委員会の承認を得た後に、症例の蓄積を開始した。移植後、経時的に表面マーカーの解析、ELISPOT法、Tetramer法を用いた抗原特異的反応を解析した。Tetramer法には、サイトメガロウイルス(CMV)由来抗原ペプチド、ATLウイルス関連ペプチド、および各種腫瘍抗原ペプチドを用いた。HLA-A02関連CMVペプチドを用いた解析ではCTL活性が臨床経過と一致して測定できたが、腫瘍抗原ペプチドを用いた解析では、腫瘍抗原特異的T細胞は検出できなかった。

#### A. 研究目的

同種造血幹細胞移植の治療効果と副作用の多くに免疫が関与している。本研究は、移植後免疫回復解析を行い、治療並びに副作用の機序を解明し、治療の効果と安全性の向上に結びつけることを目的としている。本研究では、国立がんセンター内倫理審査委員会で承認を受けた研究計画書に基づき、1) 各種細胞表面マーカー、2) SEB刺激並びにCMV Lysate刺激によるサイトカイン産生能の比較、3) HLA-A02症例並びにHLA-A24症例においては、CMV抗原ペプチドあるいは各種腫瘍抗原ペプチドに対するELISPOT解析並びにTetramer解析、5) 臍帯血に関しては、TREC並びにTCR Repertoire解析を経時的に行い、臨床経過と比較検討して科学的な意味付けを行う。さらにその結果を、1) 各種造血幹細胞源(末梢血幹細胞、骨髓細胞、臍帯血)、2) 免疫抑制剤、3) HLA一致状態や血縁者、非血縁者などのドナー、4) 治療効果・副作用の有無などの差異によって違いが生じるか否かを解析し、ミニ移植後の免疫回復の臨床的意味合いを解析する。最終的には、これらの結果を総合し、同種移植療法をより安全で効果の高い治療法に改良することを目指す。さらに、移植療法の治療効果増強のため、CTL療法やNK・NKT細胞を用いた受動免疫療法、ペプチドワクチン療法、樹状細胞療法などを開発する。

#### B. 研究方法

定期的採血として、移植前処置開始前、移植後30±3日、60±3日、90±3日、120±3日、180±3日、240±10日、300±10日、360±10日に、各20mlのヘパリン採血を行う。採血後の血液は直ちに単核球に分離し、以下の解析を行った。

- ① 当日行う解析：細胞表面マーカー、SEB刺激並びにCMV Lysate刺激後の細胞内サイトカイン産生解析、Tetramer解析
- ② 単核球を保存し、後日まとめて行う解析：ELISPOT解析、TREC並びにTCR Repertoire解析
- ③ 血清を保存し、後日まとめて行う解析：臍帯血移植後の発熱時の液性因子の解析

本年度は、特に2)に含まれるELISPOT法を中心に結果をまとめた。用いた抗原ペプチドは以下のとおりである。

HLA-A24症例：CMV、HTLV-1、WT-1、SART-3、Lck、MAGE3、Bcr-abl、Her2/neu、CEA、PRAME、hHERT。

HLA-A02症例：CMV、HTLV-1、CEA、PR1、Her2/neu、UBE2V、TERT、AFP、WT1、PRAME

患者検体は、 $5 \times 10^6$ /tubeで保存し、解凍後RPMI Mediumで1日培養した後、該当ペプチドを加えてさらに1日培養を行う。判定規準として、ペプチド

を加えたスポット数が陰性コントロールの2倍以上、かつ PBMC 10e5 あたり 2 個以上の差を認めた場合を特異的 CTL 陽性と判定した。可能な症例に関しては、Tetramer 解析も併せ行った。

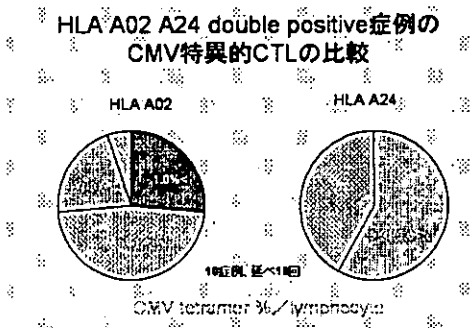
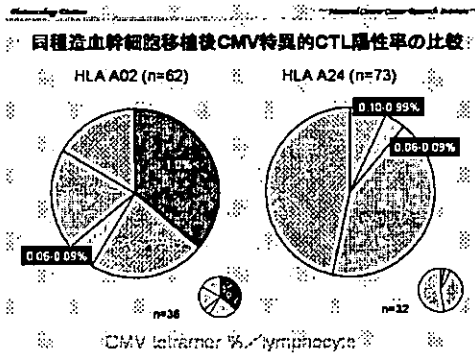
### <倫理面への配慮>

本研究計画は、国立がんセンター内倫理審査委員会の承認を得ており、承認された説明文書を持ちて説明すると共に、文書にて同意が得られた被検者のみを対象として行った。また、研究計画書内に定めた手続きを遵守し、被験者のプライバシーが外部に漏れないよう細心の注意を払った。

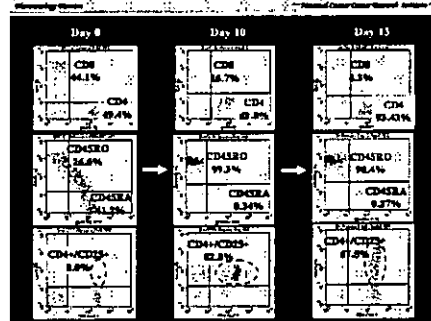
## C. 研究結果

### 1) CMV に対する抗原特異的応答

A02 症例では、ドナーが CMV 陽性であった場合には、移植後早期に CMV に対する特異的免疫が回復することが明らかとなった。また、これら免疫回復と CMV 抗原血症を含む CMV 関連事象が関連することも明らかとなった。一方、A24 症例においては、特異的免疫は見られるものの、頻度も陽性強度も極めて低かった。A24 と A02 を併せ持つ症例においては、A02 関連テトラマー陽性率が A24 テトラマー陽性細胞率の 10 倍以上ある例が散見された。



2) 1) の結果から、A24 型が多いわが国においては、ウイルス特異的リンパ球療法を考えるに際しては、クラス I 関連抗原ペプチドを用いて抗原特異的 CD8 陽性 T 細胞を誘導する方法よりも、むしろクラス I に拘束されない CD4 陽性 T 細胞を用いる方法が有利である可能性が考えられた。そこで、ウイルスライセートを用いて、ウイルス特異的陽性 T 細胞細胞の培養法の検討を行った。研究室レベルではあるが、約 2 週間の培養によって、CD4 陽性細胞の割合が 95% 以上、ほとんどがメモリータイプとなる培養方法が確立できた。



ウイルスライセートを用いて培養したリンパ球の経時的変化

3) A02 例において、PR-1、WT-1 等腫瘍抗原ペプチドに対する CD8T 細胞の反応を検討した。CMV をはじめとするウイルス抗原と比較して、腫瘍抗原ペプチドに対する反応性は低く、陰性コントロールとの差は明確ではなかった。その原因として、腫瘍抗原に対する反応がもともと低いためなのか、あるいはアッセイ方法に問題があるのか、さらなる検討が必要である。

## D. 考察

移植後 CMV に対する特異的免疫回復を解析した結果、HLA-A02 と比較して HLA-A24 関連ペプチドの活性が低いことが判明した。このことは、1) 移植後 CMV 特異的免疫回復モニタリング、並びに 2) CMV に対する受動免疫療法を開発するうえで重要である。すなわち、HLA-A24 関連 CMV ペプチドを用いた免疫回復モニタリングは現法のままでは用いることができないこと、受動免疫療法の開発においては HLA-クラス I に拘束されない陽性 T 細胞を用いる系の開発が必要であると判断される。我々は、モニタリングに関しては、ペプチドを用い

て検体を培養し、特異的リンパ球を増幅することを今後試みる。腫瘍抗原に対する特異的免疫回復も、現法ではモニタリング不可能であるため、A24におけるCMV抗原と同様の検討を計画している。

## E. 結論

- 1) 同種造血幹細胞移植後の免疫回復過程を検討した。CMV特異的免疫回復はHLA-A02においては解析可能であり、その結果は臨床経過と密接に関連した。しかしA24症例においては強度が低く、モニタリング不可能であった。また、ウイルス特異的リンパ球を用いた受動免疫療法を考える際には、HLA-クラスIに拘束されないCD4陽性T細胞を用いる方法が望ましいことが示唆された。
- 2) CMVライセートを用いて、ウイルス特異的CD4陽性T細胞を誘導する方法を確立した。
- 3) 腫瘍抗原ペプチドに対する反応性はウイルス抗原に対する反応性と比べて弱く、現在の方法ではモニタリングが不可能であることが明らかとなった。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Saito T, Kanda Y, Nakai K, Kim S W, Arima F, Kami M, Tanosaki R, Tobinai K, Wakasugi H, Heike Y, Mineishi S, and Takaue Y. Immune reconstitution following reduced-intensity transplantation with cladribine, busulfan, and antithymocyte globulin: serial comparison with conventional myeloablative transplantation. *Bone Marrow Transplant*,
- 2) Nakai K, Mineishi S, Kami M, Saito T, Hori A, Kojima R, Imataki O, Hamaki T, Yoshihara S, Ohnishi M, Kim S W, Ando T, Fumitoh A, Kanda Y, Makimoto A, Tanosaki R, Kanai S, Heike Y, Ohnishi T, Kawano Y, Wakasugi H, and Takaue Y. Antithymocyte globulin affects the occurrence of acute and chronic graft-versus-host disease after a reduced-intensity conditioning regimen by modulating mixed chimerism induction and

immune reconstitution. *Transplantation*, 75:2135-2143, 2003.

- 3) Kojima R, Kami M, Kim SW, Murashige N, Kishi Y, Hori A, Imataki O, Hamaki T, Sakiyama M, Masuo S, Fujisawa Y, Makimoto A, Heike Y, Tanosaki R, and Takaue Y. Induction of graft-versus-autoimmune (GVA) disease effect against refractory psoriasis by complete donor-type chimerism and graft-versus-host disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant*, 32:439-442, 2003.
- 4) Kamitsuji Y, Mori S, Kami M, Yamada H, Shirakawa K, Kishi Y, Murashige N, Kim SW, Heike Y, and Takaue Y. Fatal deep vein thrombosis after allogeneic reduced intensity hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of metastatic gastric cancer. *Ann Hematol*, 2003. in press

### 2. 学会発表

Kishi Y, Onishi M, Heike Y, Kami M, Takaue Y, Wakasugi H, and Kakizoe T. Induction of CMV specific CD4 T cells by culture with cytomegalovirus (CMV) lysate. *International Society for Cellular Therapy 9<sup>th</sup> International Meeting*.

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

『分担研究課題名：細胞免疫療法の臨床評価』

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 固形癌に対する治療効果の判定基準としては、Response Evaluation Criteria in Solid Tumors (RECIST criteria)が現在の世界標準とされているが、免疫治療の判定方法としては不適切などところが多い。しかしながら現在適切な評価方法は確立されていない。まずこの問題点を指摘し、共通の評価方法を作成することで世界的な合意を得た。われわれは一定時期における腫瘍縮小率をエンドポイントとすることを提唱している。

### 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。これを同様の研究を行う他グループにも提示し、共通の指標を作成するよう努力する。

### <倫理面への配慮>

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引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用した。

#### 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用した。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で、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、この点に関連するが、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ため、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、ど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、移植後のド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ばならないと考える。

#### 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がきわめて重要である。

#### F. 健康危機情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

Hori A, Kunitoh H. *et al.* Urgent need for a validated tumor response evaluation system for use in immunotherapy. *Bone Marrow Transplant*, 33:255-256, 2004.

#### H. 知的財産権の出願・登録状況

##### 1. 特許取得

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし

**研究要旨** 難治消化器癌である切除不能膵癌5例に対してミニ移植を行った。対象は男3例、女2例、年齢40～68才(平均58.2才)である。HLA一致の同胞から末梢血造血幹細胞を採取し患者に移植した。移植後15日で4例、30日で全例T Cell完全キメラとなった。CTスキャン上2例に腫瘍縮小、2例に腫瘍マーカー値の低下、2例に疼痛寛解、1例に胸腹水減少効果を認め(重複例を含む)、無効は2例であった。2例に急性GVHD、2例に慢性GVHDの発症を認めた。これらの結果は、ミニ移植が膵癌に対してGVT効果を発揮することを明らかにした。

#### A. 研究目的

膵癌は外科、化学、放射線療法に抵抗する難治癌の代表格である。それ故、新しい治療Modalityの開発が急務である。ミニ移植は白血病に対して強い抗腫瘍効果を示すだけでなく、腎細胞癌、乳癌など固形癌に対しても抗腫瘍効果(GVT効果)を示すことが最近明らかにされた。しかし、膵癌に対するGVT効果は、まだ明らかにされていない。本研究の目的は、難治癌である膵癌に対してもミニ移植によってGVT効果が引き起こされるかどうかを明らかにすると同時に、ミニ移植が新しい膵癌治療のModalityになりうるかどうか検討することにある。

#### B. 研究方法

対象は切除不能膵癌5例である。年齢40～68才(平均58.2才)である。4例はミニ移植前ジェムシタピンなどの化学療法が行われたが、無効または再増悪例である。残る1例は高度局所進行膵癌症例である。ミニ移植前処置としてサイクロホスファミド60mg/kgを2日間投与し引き続きフルダラビン25mg/m<sup>2</sup>を5日間投与した。HLA一致の兄弟(姉妹)にG-CSFを投与し、末梢血造血幹細胞を採取しこれを患者に投与した。

#### <倫理面への配慮>

本研究は駒込病院倫理委員会で承認され(2001年3月6日)、全ての患者およびDonorに対しては、本治

験の意義、必要性、効果の不確実性、危険性について十分説明し、納得を得た上で書面にて同意書に署名押印を得た。

#### C. 研究結果

ミニ移植15日後の末梢血におけるT cellキメリズムPCR assayでは、4例において完全キメラとなり、30日後は全例T cell完全キメラとなった。ミニ移植後100日以上生存した3例中2例は移植後100日目のPCR assayで、完全Donor myeloid chimerismとなった。

CTスキャン検査で1例は腫瘍縮小率80%、他の1例は縮小率40%と、2例に腫瘍縮小効果が認められた。また、この2例は移植前認められた膵癌特有の著しい疼痛は、劇的に改善された。1例には胸腹水の減少が認められた。

腫瘍マーカーCA19-9値についてみると、2例は低下、2例は不変または増加した。また、CA19-9値の低下した2例にGVHD症状改善のためステロイドを投与したところ、CA19-9値は増加し、ステロイド投与を中止するとこの値は再び低下した。

しかし、2例はミニ移植に反応せず臨床的にPDであった。急性GVHDが2例(grade III肝および腸、grade II腸)に発症した。2例に全身性慢性GVHDが皮膚に移植120日後に発症した。急性または慢性GVHDが原因と考えられる死亡は認められなかった。

患者はミニ移植52～349日後に全て癌進行のため癌死した。しかし、移植後349日に死亡した切除不能局所進行膵癌患者は、著しい腫瘍縮小と疼痛消失により退院可能となり、ミニ移植が奏功した最初の1例と考えられた。

#### D. 考察

ミニ移植の固形癌に対する GVT 効果は、これまで腎癌、乳癌についての報告はあるが、膵癌についての報告はなかった。今回、われわれは切除不能膵癌に対するミニ移植を施行し、腫瘍縮小、疼痛寛解、胸腹水減少、腫瘍マーカー値の低下など GVT 効果と考えられる効果をうる事が出来た。とくに、興味あるのはサイクロスポリンやステロイドなど GVHD に対する免疫抑制剤の投与と腫瘍マーカーの関係である。これらの免疫抑制剤の投与によって、腫瘍マーカー値は上昇し、投与中止によって再び腫瘍マーカー値は減少した。これは GVT 効果の存在を示唆する所見と考えられる。

T cell キメリズムは全ての例で達成したが、腫瘍縮小のみられた例ではいずれも T cell 完全キメリズムが達成後に認められた。これは Donor T cell による GVT 効果を示唆する所見である。

急性 GVHD は5例中2例 (Grade II, Grade III) が発症した。GVT 効果のあった症例すべてに GVHD が起こったわけではない。このことから GVT 効果と GVHD を引き起こす Donor cell antigens については、今後十分検討が必要であり、ミニ移植の最も大きな有害反応である GVHD を防止する鍵であると考えられる。

ミニ移植による GVT 効果は、腫瘍縮小、疼痛寛解、胸腹水の減少などを含み、時には劇的効果を示す場合もある。従って、治療の最も困難な難治癌である膵癌の新しい治療の modality となりうる可能性がある。しかし、ミニ移植は GVHD という時には致命的有害反応が発現することがあることに十分留意すべきである。今後は、いかにして GVHD を抑え GVT 効果を引き出すかが課題である。

さらに、GVT 効果は通常ミニ移植後ある程度遅れて起こることが多く、効果発現まで時間を要するので、転移・浸潤の激しい高度進行膵癌では時間的余裕のないこともあり、ミニ移植の患者の選択も重要である。

#### E. 結論

われわれの今回の成績から、膵癌に対するミニ移植は、これまで報告された腎癌、乳癌などの固形癌のミニ移植と同様に GVT 効果を引き起こすことが明らかとなった。膵癌において、GVT 効果を明らかにしたのは、本研究が最初である。

膵癌に対するミニ移植は腫瘍縮小、疼痛寛解、胸腹水の減少など臨床的に著しい効果を示す場合もあり、治療の最も困難な難治癌の代表格ある膵癌治療の新しい一つの治療 Modality となる可能性がある。

膵癌のミニ移植を安全に行うためには、如何にして GVHD を抑え GVT 効果を引き出すかが今後の課題である。

#### F. 健康危機情報

ミニ移植には、GVHD という時には致命的有害反応がある。これに対してはこれまで、白血病に対する骨髄移植などで種々検討されている。従って、ミニ移植の実施に当たっては、現時点ではこれらの十分な経験のある施設で行うべきである。

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Okamoto A, Tsuruta K, Matsumoto G, **Takahashi T**, Kamisawa T, Egawa N, Funata N. Papillary carcinoma of the extrahepatic bile duct: characteristic features and implications in surgical treatment. J Am Coll Surg. 96 : 394-401, 2003.
- 2) Omuro Y, Matsumoto G, Sasaki T, Tanaka Y, Maeda Y, Sakamaki H, Hiruma K, Tsuruta K, **Takahashi T**, Case report :Regression of an unresectable pancreatic tumor following nonmyeloablative allogeneic peripheral stem cell transplantation. Bone marrow transplantation, 31 : 943-945, 2003.
- 3) **Takahashi T**, Omuro Y, Sakamaki H, Maeda Y, Hiruma K, Matsumoto G, Tsuruta, K., Sasaki T. Non-myeloablative allogeneic stem cell transplantation for patients with unresectable pancreatic cancer. Pancreas, 28:(3) 2004. in press

## 2. 学会発表

1) Y. Omuro, M. Nakane, T. Takahashi et al:  
Reduced-intensity allogeneic stem-cell  
transplantation for gastrointestinal cancer. Prec.  
Am. Soc. Clin. Oncol. (Abstr. #3352).  
22: 834, 2003. (米国臨床腫瘍学会 2003.05)

2) 八岡利昌、松本岳、鶴田耕二、岡本篤武、高橋  
俊雄：術中・術後照射を軸にした膵癌の治療成  
績と術後肝転移対策について 第103回日本外  
科学会定期学術集会、2003年6月

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし



『分担研究課題名：消化器癌に対する同種細胞免疫療法の開発研究』

山上 裕機 和歌山県立医科大学/第2外科

**研究要旨** 固形悪性腫瘍に対するミニ移植の報告例は、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、血清中のサイトカイン、白血球数、白血球分画、CD4/CD8 比を測定することが重要であると考えられた。また、今後、サイトカイン受容体についても個別化の一環としてサイトカイン受容体の遺伝子多型なども検討中である。

### A. 研究目的

肺癌などの消化器固形悪性腫瘍は一般的に推奨されている標準化学療法を施行しても、その奏効率は30%以下のことが多く、長期生存を得るのは困難である。また、化学療法に用いられる有効な抗癌剤の種類も少ないため、second lineやthird lineといった治療法の選択枝は少なく、多剤も組み合わせた癌化学療法は十分に展開できず、化学療法の無効例や逸脱例に対する有効な治療法がないのが現状である。一方、マウスのみならずヒトでも宿主T細胞の自己腫瘍細胞に選択的な傷害活性を誘導するための抗腫瘍ペプチドが証明されたことから、リンパ球を中心とした免疫担当細胞が腫瘍細胞に対するcytotoxicな抗腫瘍免疫能を有することが証明され、一部の悪性腫瘍では臨床治験も施行された。しかし、難治性消化器固形悪性腫瘍に対しては、その効果はまだまだ期待できるものではなかった。近年、白血病などの血液悪性腫瘍に対し骨髄非破壊性ミニ移植が行われ、骨髄破壊性骨髄移植より安全性が高く、無菌室などの経済効果に優れ、抗腫瘍効果も遜色のない有効性が得られてきた。固形腫瘍においては、腎細胞癌を中心にミニ移植が施行されてきた。しかし、依然として固形腫瘍に対するミニ移植の経験症例は少なく、まだまだ検討すべき余地が多い。Full matchのミニ移植といえども、移植したリンパ球と種々の細胞との相互反応から大量のcytokineが血中に流出してくることは容易に想像でき、TNF- $\alpha$ やIL-6などが急性反応に大いに関与していると考えられる。一般的にヒトは同系マウスのような均一の固

体ではなく、遺伝子多型を有するため、例えばある物質に対する反応性ひとつに関しても、さまざまな違いを呈する。TNF- $\alpha$ の受容体にも遺伝子多型が報告されており、その遺伝子多型によってTNF- $\alpha$ の反応性に差が生じることが報告されており、固形腫瘍に対するミニ移植の安全性と有効性を確立するための一手段として、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、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、血清中のサイトカイン(TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-6)、白血球数、白血球分画、CD4/CD8比を測定する。

### <倫理面への配慮>

ヘルシンキ宣言を遵守し、患者個人情報が出しなないように留意する。

## 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

消化器固形悪性腫瘍は有効な治療法が少なく、外科的切除が最も優れた治療法であることは議論の余地もない。しかし、消化器固形悪性腫瘍の中でも、膵癌は診断時に外科的切除が可能な症例は 30-40% しかなく、切除可能例の 5 年生存率も極めて不良である。さらに、進行再発膵癌に対する標準的治療は化学療法であるが、その奏効率も満足のものではなく、また、化学療法に用いる有効薬剤の種類も少なく、固形悪性腫瘍の治療に難渋することが多い。ミニ移植は免疫担当細胞を使用した新しい観点からの治療法で、治療法のない消化器悪性腫瘍の新たな治療戦略になる可能性がある。そこで、ミニ移植がいかに安全に展開できるかが重要となってくる。以前より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の検討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、腎細胞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、effector 細胞や抗腫瘍機序など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。種々のサイトカインのなかでも、急性炎症の時期に血圧低下などのショック様症状を誘導するのは TNF- $\alpha$ 、IL-2、IL-6 が代表的であると考えられる。そこで、それらの血中濃度の推移を検討することは非常に重要である。近年の遺伝子工学の進歩はめざましく、1 つの遺伝子塩基配列の違いもわかるようになってきた。TNF- $\alpha$  receptor や toll-like receptor などの免疫担当細胞に大きく関わる受容体にも遺伝子多型があり、その有無により、TNF- $\alpha$  や LPS に対する反応性が異なることが報告されていることなどから、今後、サイトカイン受容体の遺伝子型も検討する必要があることが予想される。

## 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や白血球数、白血球分画、CD4/CD8 比の測定は必要である。膵癌をはじめとする難治性消化器癌に対する手術、化学療法、放射線療法につぐ第4の治療法としてミニ移植を用いた免疫療法の有効性が示唆された。

## F. 健康危機情報

該当なし

## G. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Nakamori M, Iwahashi M, Nakamura M, Ueda K, Zhang X, **Yamaue H**. Intensification of antitumor effect by T helper 1-dominant adoptive immunogene therapy for advanced orthotopic colon cancer. Clin Cancer Res, 9:2357-65, 2003.
- 2) Shono Y, Tanimura H, Iwahashi M, Tsunoda T, Tani M, Tanaka H, Matsuda K, **Yamaue H**. Specific T-cell immunity against Ki-ras peptides in patients with pancreatic and colorectal cancers. Br J Cancer, 24;88(4):530-6, 2003.
- 3) Matsuda K, Tsunoda T, Tanaka H, Umano Y, Tanimura H, Nukaya I, Takesako K, **Yamaue H**. Enhancement of cytotoxic T-lymphocyte responses in patients with gastrointestinal malignancies following vaccination with CEA peptide-pulsed dendritic cells. Cancer Immunol Immunother, 20: 2004. (in press)

## H. 知的財産権の出願・登録状況

### 1. 特許取得

該当なし

### 2. 実用新案登録

該当なし

### 3. その他

該当なし

**研究要旨** 本邦でこれまでに当該治療が行われた24例中移植後180日以内での死亡した5症例、および部分寛解を示した2症例で、腎細胞癌の予後規定因子(不良因子)として考えられる因子についてその存在の有無を検討した。この結果早期死亡症例では予後不良因子が多く存在し、部分寛解例では少なかった。このことから本療法の施行決定のためには、上記の因子の存在を検討することが最終的な効果の改善にある程度有用と思われた。

### 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うち奏効症例および移植後早期の死亡症例について、臨床的因子、病理組織学的因子を調査し、本療法の適応について検討し、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。

### C. 研究結果

今回の検討対象症例数は昨年度と同様の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。前処置はフルダラビ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ことは既報告の通りである。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例であったが、このうち5例は移植後180日以内での死亡症例であった。この5症例と、部分寛解を示した2症例で、腎細胞癌の予後規定因子(不良因子)として考えられる以下の因子についてその存在の有無を検討した。1. 本治療施行前に腎臓摘出をしていない、2. 腫瘍の組織学的悪性度がgrade3、3. 淡明細胞癌以外の組織型、4. 初回診断時から転移出現までの期間が12ヶ月以内、5. 発熱、CRP高値、あるいは血沈の亢進が見られる、6. 血清カルシウム値が高値、7. LDHが高値、8. 肺以外の転移あり、9. PSが1以上。180日以内での死亡例では8因子を有する症例が1例、5因子2例、1因子2例であるのに対し、部分寛解症例では1因子1例、0因子1例であった。

### D. 考察

今回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、移植後180日以内での死亡症例では、これ

までに腎細胞がんの予後規定因子として考えられている因子が多数存在する傾向があり、本療法施行開始時から平均生存期間が6ヶ月以内と考えられる症例も3症例存在した。一方、部分寛解を示した2例では、そのうち1例のみで1因子の存在のみで、平均生存期間は少なくとも6ヶ月以上期待できるものと思われた。このことは本療法の施行決定のためには、上記の因子の存在を検討することが最終的な効果の改善にある程度有用と思われる。

#### 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は、既に報告されている予後因子を検討することである程度効果が期待できる症例を選択する可能性が示唆された。

#### F. 健康危機情報

該当なし

#### G. 研究発表

##### 1. 論文発表

該当なし

##### 2. 学会発表

第68回日本泌尿器科学会東部総会

特別講演「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

該当なし

##### 2. 実用新案登録

該当なし

##### 3. その他

該当なし