

89. Fujita T, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Ochiai A, and Kinoshita T. Incidence, clinical presentation and pathological features of benign sclerosing cholangitis of unknown origin masquerading as biliary carcinoma. *J. Hepatobiliary. Pancreat. Surg.* 2009; [Epub ahead of print]
90. Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, and Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. *Cancer Sci* 2009; 100: 1403-1407.
91. Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, and Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer. *Int. J. Oncol.* 2009; 34: 649-656.
92. Kobayashi S, Gotohda N, Nakagohri T, Takahashi S, Konishi M, and Kinoshita T. Risk factors of surgical site infection after hepatectomy for liver cancers. *World J. Surg.* 2009; 33: 312-317.
93. Kinoshita T, Sasako M, Sano T, Katai H, Furukawa H, Tsuburaya A, Miyashiro I, Kaji M, and Ninomiya M. Phase II trial of S-1 for neoadjuvant chemotherapy against scirrhus gastric cancer (JCOG 0002). *Gastric Cancer* 2009; 12: 37-42.
94. Hirayama A, Kami K, Sugimoto M, Sugawara M, Toki N, Onozuka H, Kinoshita T, Saito N, Ochiai A, Tomita M, Esumi H, and Soga T. Quantitative metabolome profiling of colon and stomach cancer microenvironment by capillary electrophoresis time-of-flight mass spectrometry. *Cancer Res.* 2009; 69: 4918-4925.
95. Fujita T, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, and Kinoshita T. Clinical and histopathological features of remnant gastric cancers, after gastrectomy for synchronous multiple gastric cancers. *J. Surg. Oncol.* 2009; 100: 466-471.
- H. 知的財産権の出願・登録状況
(予定を含む。)
1. 特許取得、又は出願中
- 1) 西條長宏
特願 2003-102869 記察日 平成 21 年 5 月 1 日、グルクロン酸抱合酵素 1A9 による薬物解毒代謝の異常の遺伝子診断に用いることができる変異型ポリヌクレオチド及び核酸分子
- 2) 平家勇司
特願 2009-288141 遠心分離容器、遠心分離用容器の姿勢保持用アダプター及び遠心分離用用具
- 3) 荻野 尚
1. 特願 2009-064295 : 荷電粒子線照射制御装置及び荷電粒子線照射方法
2. 特願 2009-017114 : 陽子線治療におけるボジトロン放出核種のアクティビティ分布のシミュレーション法
3. 特開 2008-173299 : 荷電粒子線照射装置、及び荷電粒子線照射方法
4. 特開 2008-173298 : 荷電粒子線照射装置
5. 特開 2008-173297 : 荷電粒子線照射装置
- 4) 渡辺 俊一
(特許取得)
1. 特願 2007-41498 「癌の悪性度を分類する方法、装置およびプログラム」
(特許出願中)
1. 特願 2006-336432 「縦隔リンパ節郭清で切除される領域を複数の区域にセグメンテーションする装置およびプログ

ラム」

2. 特願 2006-336431 「肺を肺区域の単位に自動的にセグメンテーションする装置およびプログラム」
2. 実用新案登録
なし
3. その他
なし

科学的・行政的背景をふまえた、細胞免疫療法の臨床開発

研究分担者 平家 勇司 国立がんセンター中央病院・臨床試験・治療開発部 医長

研究要旨

該当指針に基づき α GalCer+IL2刺激単核球の試験薬概要書並びに進行腎細胞がんに対する臨床研究計画書を作成し倫理審査委員会に提出した。抗体療法の有効性を高めるために、高親和性Fc γ RIIIa遺伝子をクローニングすると共に、その発現レトロウイルスベクターを構築した。そのベクターを用いて、培養細胞株並びに新鮮単核球に高親和性Fc γ RIIIaの導入・発現させることができることを確認した。

A. 研究目的

昨年までに前臨床試験を終了した、 α GalCer+IL2刺激単核球製剤を用いた臨床研究計画を作成するとともに、倫理審査委員会の承認を得たのち開始する。新規遺伝子治療として、ADCC活性を高めるため、高親和性Fc γ RIIIa (HAFc γ RIIIa)遺伝子導入リンパを作製するため、HAFc γ RIIIa遺伝子のクローニングと発現ベクターの構築を行う。ベクター作成後に、単核球への遺伝子導入を試み、目的の効果が得られるか否かを検討する。

B. 研究方法

独自に開発した培養システムを用いて試験製造した、 α GalCer+IL2刺激単核球製剤の物性試験、非臨床安全性試験結果を完結する。その際、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」に沿ってデータをまとめ、試験薬概要書を作製する。ADCC活性が高い健常ボランティアからFc γ RIIIaをクローニングし、High Affinity typeであることをsequenceにて確認する。全領域の配列を確認したのち、レトロウイルスベクターを作製し、培養細胞株並びに健常者単核球に遺伝子導入し、その発現をFACSにて確認する。

（倫理面への配慮）

ボランティア検体の採取と解析方法を含む研究計画書を作成し、倫理審査委員会の承認を得て研究を行った。採血に際しては、当日のボランティアの状態を診察し、文書による説明を行ったうえで同意の署名を得た。動物実験に関しては、国立がんセンター動物実験倫理委員会規定を遵守し実施した。

C. 研究結果

独自に開発した培養システムを用いて製造した、 α GalCer+IL2刺激単核球製剤の物性試験、並びに非臨床安全性試験のデータを、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」と照らし合わせ、その要求項目を網羅していることを確認した。今回の治療用細胞製剤製造並びに物性・安全性試験

は、GMP並びにGLP規格とは行かないまでも、臨床研

究用院内調製品の規格はみだすものと判断した。本細胞製剤を用いて、進行腎細胞がんに対する細胞免疫療法の臨床研究計画書を作成し、倫理審査委員会に提出した。現在、審議中である。

健常ボランティアよりHAFc γ RIIIa遺伝子をクローニングし、HAFc γ RIIIa発現レトロウイルスベクターを構築した。このレトロウイルスベクターを用いて、培養細胞並びに健常ボランティア単核球にHAFc γ RIIIa遺伝子導入されることを確認した。

D. 考察

独自培養システムを用いて製造した α GalCer+IL2刺激単核球製剤の物性試験並びに非臨床安全性試験結果が、「ヒト（自己）由来細胞・組織加工医薬品等の品質および安全性の確保に関する指針」で要求された項目を網羅していることを確認できたことは、本細胞製剤が臨床試験を実施するに際して必要な条件を満たしていることを意味する。また、本年度の高度医療評価会議の議論の中で、国内外未承認の医薬品を用いた臨床研究の申請に際しては、試験薬の概要書の添付が求められることになったが、我々の研究においては、その必要条件を満たしていることになるかと考えている。現在、本研究の臨床研究計画が倫理審査委員会で審議されており、承認され次第実施すると共に、数例の治療の後、高度医療への申請を視野に入れた検討を行っていく予定である。

現在、多くの抗体医薬品が承認され、がんに対する治療薬の重要なパーツを占めている。今までの臨床経験より、抗体療法に対して高い反応性を示す患者と、低い反応性しか示さない患者がおり、その原因としてFc γ RIIIa遺伝子の一塩基置換が考えられている。このことは、低親和性Fc γ RIIIa遺伝子を持つ患者単核球に、高親和性Fc γ RIIIa (HAFc γ RIIIa) を遺伝子導入することで、抗体療法の効果を高められることを意味している。HAFc γ RIIIa遺伝子のクローニング並びに発現ベクター構築という本年度の研究成果は、この治療法実現のための第一歩である。今後、ヒト初代培養単核球への遺伝子導入効率

並びに発現効率を高め、その抗腫瘍活性増強効果を確認すると共に、臨床応用に必要なデータの解析を行い、可能な限り早期の臨床研究を目指したい。

E. 結論

独自の培養システムを用いて製造した α GalCer+IL2刺激単核球製剤の物性試験並びに非臨床安全性試験の結果は、細胞製剤に関する指針の項目に準拠していた。その結果を用いた試験薬概要書を作製すると共に、臨床研究計画を作製し倫理審査委員会に提出した。高親和性Fc γ RIIIa (HAFc γ RIIIa) 遺伝子をクローニングし、発現レトロウイルスベクターを構築した。このレトロウイルスベクターを用いて、培養細胞株並びに新鮮単核球にHAFc γ RIIIa遺伝子を発現させることができることを確認した。

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Kurosawa S, Fukuda T, Tajima K, Saito B, Fuji S, Yokoyama H, Kim SW, Mori S, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y. Outcome of 93 patients with relapse or progression following allogeneic hematopoietic cell transplantation. Am J Hematol. 2009 Dec;84(12):815-20. Heike Y. [Gene therapy for myeloid leukemia] Nippon Rinsho. 2009 Oct;67(10):1958-63.
2. Heike Y. [Gene therapy for myeloid leukemia] Nippon Rinsho. 2009 Oct;67(10):1958-63.
3. Soeda A, Morita-Hoshi Y, Makiyama H, Morizane C, Ueno H, Ikeda M, Okusaka T, Yamagata S, Takahashi N, Hyodo I, Takaue Y, Heike Y. Regular dose of gemcitabine induces an increase in CD14+ monocytes and CD11c+ dendritic cells in patients with advanced pancreatic cancer. Jpn J Clin Oncol. 2009 Dec;39(12):797-806.
4. Fuji S, Kim SW, Mori S, Kamiya K, Yoshimura K, Yokoyama H, Kurosawa S, Saito B, Takahashi T, Kuwahara S, Heike Y, Tanosaki R, Takaue Y and Fukuda T. Intensive glucose control after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation: a retrospective matched-cohort study. Bone marrow transplant, 44(2):105-11, 2009.
5. Fuji S, Kim SW, Mori S, Furuta K, Tanosaki R, Heike Y, Takaue Y and Fukuda T. Decreased insulin secretion in patients receiving tacrolimus as GVHD prophylaxis after allogeneic hematopoietic SCT. Bone marrow transplant 2009.

G. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

1. 特許取得

特願2009-288141 遠心分離容器、遠心分離用容器の姿勢保持用アダプター及び遠心分離用用具
他一件、申請予定

2. 実用新案登録

該当事項なし

3. その他

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

ナノバイオ・ウイルス製剤と放射線の相互作用機構に関する研究

研究分担者 藤原 俊義 岡山大学病院 遺伝子・細胞治療センター・准教授

研究要旨

テロメライシン (Telomelysin, OBP-301) は、テロメラーゼ構成成分である *hTERT* 遺伝子のプロモーターを用いて作成した腫瘍融解ウイルスである。本研究では、局所療法としてのテロメライシン腫瘍内投与の抗腫瘍活性を増強するために、局所放射線治療との併用効果を検討し、さらにその作用機構の解析を行ってきた。本年度は、IVIS非侵襲的イメージングシステムを用いて、ヌードマウスの同所性ヒト食道癌モデルにおけるテロメライシンの腫瘍内投与と局所放射線治療の相乗効果を明らかにした。また、本研究で明らかとなったテロメライシンと放射線治療の併用効果と分子機構に基づき、臨床研究プロトコルを作成し、岡山大学病院遺伝子治療臨床研究審査委員会に申請した。

A. 研究目的

テロメライシンはテロメラーゼ活性を標的とする固形癌治療を目的とした生物製剤であり、生体内で自立性を持って増殖することによる従来の抗癌剤にない抗腫瘍効果の増強が期待できる。本研究は、培養細胞レベルおよびマウスモデルにおけるテロメライシンと放射線の併用効果の検討とその相互作用機構の解析を行い、その研究成果を理論的根拠として進行固形癌に対する臨床研究を推進することを目的としている。

B. 研究方法

1) ルシフェラーゼ遺伝子発現ヒト食道扁平上皮癌細胞 TE8 (2×10^6 個/マウス) を、マトリゲルに混じて開腹下に6週齢BALB/cヌードマウスの食道胃接合部の食道壁に移植し、同所性ヒト食道癌モデルを作成した。TE8細胞移植後3週間から、2 Gyの放射線照射と開腹による 1×10^8 plaque forming units (PFU) のテロメライシンの腫瘍内投与を2日おきに3回施行した。経時的(3~4日おき)に腫瘍増殖をモニターするために、150 mg/kgの基質ルシフェリンを腹腔内投与し、10~30分後に麻酔下にIVIS非侵襲的イメージングシステムを用いて画像を記録して抗腫瘍効果を検討した。

2) 臨床研究プロトコル「頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルスTelomelysinを用いた放射線併用ウイルス療法の第I/II相臨床研究」を作成し、岡山大学病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会に実施計画書を提出した。

(倫理面への配慮)

自立的な増殖力及び感染力を保持しているテロメライシンを用いた研究は「大臣確認実験」となるため、平成16年8月に「第二種使用等拡散防止措置確認申請書」を作成、学内の担当部署での検討の後に文部科学省に申請し、研究計画実施の承認を得ている。

C. 研究結果

1) 同所性ヒト食道癌モデルにおけるテロメライシンと放射線治療の併用効果の前臨床研究

テロメライシン (Telomelysin, OBP-301) は、テロメラーゼ構成成分である *hTERT* 遺伝子のプロモーターを用いて作成した腫瘍融解ウイルスである。予備実験において、ヌードマウス同所性ヒト食道扁平上皮癌モデルでは移植後3週間で食道胃接合部に腫瘍を形成することが確認できた。局所放射線治療と照射直後の開腹下のテロメライシン腫瘍内投与を2日おきに3回繰返したところ、IVIS非侵襲的イメージングシステムでの評価ではそれぞれの単独治療でも腫瘍縮小効果はみられたが、併用によって有意に顕著な抗腫瘍効果が認められた。

2) 放射線治療とテロメライシンによる臨床研究プロトコルの作成と学内申請

昨年度までの本研究で明らかにした放射線照射とテロメライシンの相乗効果の分子機構 (DNA修復阻害)、および前臨床研究としての *in vivo* における相乗的な抗腫瘍効果に基づき、臨床研究プロトコル「頭頸部・胸部悪性腫瘍に対する腫瘍選択的融解ウイルスTelomelysinを用いた放射線併用ウイルス療法の第I/II相臨床研究」を作成した。平成21年3月25日、岡山大学病院 遺伝子治療臨床研究審査委員会に申請し、第1回審査委員会が4月6日に、第2回が8月3日に開催され、科学的・倫理的妥当性についての審議が進んできた。

D. 考察

テロメラーゼ特異的ナノバイオ・ウイルス製剤テロメライシンは、癌細胞で選択的に増殖することにより広い範囲の癌細胞死を引き起こす。米国におけるテロメライシンの各種進行固形癌に対する第I相臨床試験は終了し、その安全性と体内動態、抗腫瘍活性が明らかとなった。本研究では、前臨床研究としてテロメライシンの腫瘍内

投与と局所放射線治療の併用効果が検証され、その分子機構としてアデノウイルスE1B55kDaタンパク質発現が放射線によって生じるDNA障害の修復を阻害することが明らかになってきた。

今後は、現在学内で審議中である臨床研究プロトコールが承認された後、厚生労働省 厚生科学審議会科学技術部会に提出し、本邦で初めてとなるウイルス治療と放射線治療による集学的治療の早期の臨床応用を進めていく予定である。

E. 結論

テロメラインと放射線は相乗的に作用し、抗腫瘍活性の増強が認められた。

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Ikeda Y, Kojima T, Kuroda S, Endo Y, Sakai R, Hioki M, Kishimoto H, Uno F, Kagawa S, Watanabe Y, Hashimoto Y, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T. A novel antiangiogenic effect for telomerase-specific virotherapy through host immune system. *J. Immunol.*, 2009; 182: 1763-1769.
2. Kurihara Y., Watanabe Y, Onimatsu H, Kojima T, Shirota T, Hatori M, Liu D, Kyo S, Mizuguchi H, Urata Y, Shintani S, Fujiwara T. Telomerase-specific virotheranostics for human head and neck cancer. *Clin. Cancer Res.*, 2009; 15: 2335-2343.
3. Nakajima O, Matsunaga A, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T, Kawakami K. Telomerase-specific virotherapy in an animal model of human head and neck cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 171-177.
4. Ouchi M., Kawamura H, Urata Y, Fujiwara T. Antiviral activity of cidofovir against telomerase-specific replication-selective oncolytic adenovirus, OBP-301 (Telomelysin). *Invest. New Drugs*, 2009; 27: 241-245.
5. Liu D, Kojima T, Ouchi M, Kuroda S, Watanabe Y, Hashimoto Y, Onimatsu H, Urata Y, Fujiwara T. Preclinical evaluation of synergistic effect of telomerase-specific oncolytic virotherapy and gemcitabine for human lung cancer. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 980-987.
6. Maida Y, Kyo S, Sakaguchi J, Mizumoto Y, Hashimoto M, Mori N, Ikoma T, Takakura M, Urata Y, Fujiwara T, Inoue M. Diagnostic potential and limitation of imaging cancer cells in cytological samples using telomerase-specific replicative adenovirus. *Int. J. Oncol.*, 2009; 34: 1549-1556.
7. Takakura M, Nakamura M, Kyo S, Hashimoto M, Mori N, Ikoma T, Mizumoto Y, Fujiwara T, Urata Y, Inoue M. Intraperitoneal administration of telomerase-specific oncolytic adenovirus sensitizes ovarian cancer cells to cisplatin and affects survival in a xenograft model with peritoneal dissemination. *Cancer Gene Ther.*, 2009; (Epub ahead of print).
8. Kishimoto H, Zhao M, Hayashi K, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T, Penman S, Hoffman RM. In vivo internal tumor illumination by telomerase-dependent adenoviral GFP for precise surgical navigation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*, 2009; 106: 14514-14517.
9. Kojima T, Hashimoto Y, Watanabe Y, Kagawa S, Uno F, Kuroda S, Tazawa H, Kyo S, Mizuguchi H, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T. A simple biological imaging system for detecting viable human circulating tumor cells. *J. Clin. Invest.*, 2009; 119: 3172-3181.
10. Nakajima O, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T, Horibe T, Kohno M, Kawakami K. Use of telomelysin (OBP-301) in mouse xenografts of human head and neck cancer. *Oncol. Rep.*, 2009; 22: 1039-1043.
11. Kishimoto H, Urata Y, Tanaka N, Fujiwara T, Hoffman RM. Selective metastatic tumor labeling with GFP and killing by systemic administration of telomerase-dependent adenoviruses. *Mol. Cancer Ther.*, 2009; 8: 3001-3008.
12. Nemunaitis J, Tong AW, Nemunaitis M, Senzer N, Phadke AP, Bedell C, Adams N, Zhang YA, Maple PB, Chen S, Pappen B, Burke J, Ichimaru D, Urata Y, Fujiwara T. A phase I study of telomerase specific replication competent oncolytic adenovirus (Telomelysin) for various solid tumors. *Mol. Ther.*, 2009; (Epub ahead of print).
13. Fujiwara T. Telomerase-specific virotherapy for human squamous cell carcinoma. *Expert Opin. Biol. Ther.*, 2009; 9: 321-329.
14. Fujiwara T, Urata Y, Tanaka N. Telomerase-specific gene and vector-based therapies for human cancer. In "Telomeres and Telomerase in Cancer" (Hiyama, K., ed.), pp293-312, Humana Press, New York, USA, 2009.

科学的根拠に基づくがんの免疫療法の開発

研究分担者 中面 哲也 国立がんセンター東病院 臨床開発センター がん治療開発部 機能再生室長

研究要旨

進行肝細胞がん患者を対象に実施してきた臨床第Ⅰ相試験を完了した。安全性と免疫学的有効性が証明され、30mg、3回投与の1例に腫瘍の縮小や消失などの著明な臨床効果が出現するなどの臨床効果も見出された。根治的治療後の再発予防効果を検証する臨床第Ⅱ相試験の推奨投与量は3.0mgに決定して、国立がんセンター倫理審査委員会承認後、スタートした。ペプチドワクチン後の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて、HLA-A2, A24拘束性のペプチド特異的CTLクローンを樹立できた。細胞療法の臨床応用を目指して解析中である。

A. 研究目的

がん免疫療法は国内外において様々な研究が実施されているが、その有効性は未だ明らかにされておらず、標準療法としても確立されていない。本研究は、自ら同定したがん特異的抗原glypican-3(GPC3)とHSP105などをモデル標的抗原としたペプチドワクチンの有効性について、臨床試験を行いながら科学的エビデンスを蓄積することを目的とする。

B. 研究方法

1) GPC3ペプチドワクチンの臨床試験

進行肝細胞がん患者を対象にした臨床第Ⅰ相試験を完了し、次相の推奨投与量を決定し、引き続き第Ⅱ相試験を計画して有効性を検証する。肝細胞がん根治的治療後の再発予防効果を検証する臨床第Ⅱ相試験も計画する。

2) GPC3ペプチド特異的CTLの誘導と機能解析

ペプチドワクチンの臨床試験の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて *in vitro*にて誘導したGPC3ペプチド特異的CTLをシングルセルソーティングし、HLA-A2, A24それぞれのCTL株、さらにはクローンを樹立し、解析する。

3) 新規肺がん特異抗原の同定

札幌医大との共同研究で新規肺がん抗原LengsinのHLA-A*0201拘束性CTLエピトープの同定を試みる。

(倫理面への配慮)

本研究において、臨床試験や臨床検体を用いた研究は国立がんセンター倫理審査委員会に申請し承認を得た後に実施する。研究担当者は、ヘルシンキ宣言に従い臨床研究を実施する。患者に対しては説明文書を用いて説明し、自筆の同意書にて同意を確認する。また、患者のプライバシー保護に最大の努力を払う。

C. 研究結果

1) GPC3ペプチドワクチンの臨床試験

進行肝細胞がん患者を対象に実施してきた臨床第Ⅰ相試験を完了した。安全性と免疫学的有効性が証明され、30mg、3回投与の1例に腫瘍の縮小や消失などの著明な臨床効果が出現するなどの臨床効果も見出された。引き続き第Ⅱ相試験を計画して有効性を検証する。根治的治療後の再発予防効果を検証する臨床第Ⅱ相試験の推奨投与量は3.0mgに決定して、国立がんセンター倫理審査委員会に申請し承認されてスタートし、順調に登録が進んでいる。

2) GPC3ペプチド特異的CTLクローンの樹立

ペプチドワクチン後の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて、HLA-A2, A24拘束性のペプチド特異的CTLクローンを樹立した。これらのCTLクローンはGPC3ペプチド特異的な反応を示した。HLA-A2のCTLクローンはいずれもGPC3ペプチドに対して高い親和力を持っており、GPC3発現がん細胞株に対してHLA-class I拘束性に細胞傷害性を示した。

3) 肺がん特異抗原の同定

札幌医大との共同研究で新規肺がん抗原LengsinのHLA-A*0201拘束性CTLエピトープの同定を試みた。HLA-A2トランスジェニックマウスを用いてHLA-A2拘束性CTLエピトープのスクリーニングを行い、2種類のCTLエピトープペプチドを同定した。この2種類のペプチドを用いてヒトの末梢血単核球よりCTL誘導を行ったところ、片方のペプチドで効率よくペプチド特異的CTLが誘導され、そのCTL株から複数のCD3+CD8+CTLクローンを樹立できた。

D. 考察

1) GPC3ペプチドワクチン

がんワクチン療法標準化へ向けては第Ⅱ相試験のデザインこそが重要である。GPC3は、悪性黒色腫、

小児がん、卵巣明細胞がん、肺扁平上皮がんにも発現しており、それらのがん種に対しても、他施設と連携し、臨床試験の実施体制を整えているところである。

2) GPC3ペプチド特異的CTLクローンの解析

他のGPC3発現がん細胞株を用いた解析などを行ない、細胞療法の臨床応用を目指す。

3) がん特異抗原HSP105について

スタートが遅れているが近日中にHSP105を標的としたペプチドワクチンの臨床応用をスタートする。

4) その他のがん特異抗原について

肺がん等の免疫療法への応用にも期待している。

E. 結論

進行肝細胞がん患者を対象としたGPC3ペプチドワクチンの臨床第I相試験により、GPC3を標的とするペプチドワクチンの安全性と免疫学的有効性、臨床的効果も見出すことができたと考えている。ペプチドワクチン後の患者から採取した末梢血リンパ球を用いて、HLA-A2, A24拘束性のペプチド特異的CTLクローンを樹立できた。

F. 研究発表

1) Horie K, Tsuchihara M, Nakatsura T. Silencing of SPARC inhibits the growth of human melanoma cells with G1 arrest induction. Cancer Sci. 2009; in press.

2) Yokomine K, Senju S, Nakatsura T, Irie A, Hayashida Y, Ikuta Y, Harao M, Imai K, Baba H, Iwase H, Nomori H, Takahashi K, Daigo Y, Tsunoda T, Nakamura Y, Sasaki Y, Nishimura Y. The forkhead box M1 transcription factor as a candidate of target for anti-cancer immunotherapy. Int J Cancer. 2009; in press.

3) Shirakawa H, Suzuki H, Shimomura M, Kojima M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 expression is correlated with poor prognosis in hepatocellular carcinoma. Cancer Sci. 2009; 100(8):1403-1407.

4) Hayashi E, Motomura Y, Shirakawa H, Yoshikawa T, Oba N, Nishinakagawa S, Mizuguchi Y, Kojima T, Nomura K, Nakatsura T. Detection of glypican-3-specific CTLs in chronic hepatitis and liver cirrhosis. Oncol Rep. 2009; 22:149-54.

5) Shirakawa H, Kuronuma T, Nishimura Y, Hasebe T, Nakano M, Gotohda N, Takahashi S, Nakagohri T, Konishi M, Kobayashi N, Kinoshita T, Nakatsura T. Glypican-3 is a useful diagnostic marker for a component of hepatocellular carcinoma in human liver cancer. Int J Oncol. 2009; 34:649-656.

G. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

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

厚生労働科学研究費補助金（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

WT1ペプチド癌ワクチンの開発に関する研究

研究分担者 杉山 治夫 大阪大学大学院医学系研究科 教授

研究要旨

ウィルムス腫瘍遺伝子WT1は、白血病やほとんどすべての種類の固形癌に発現する汎腫瘍抗原である。HLA-A*2402拘束性WT1ペプチドを開発し、このWT1ペプチドを用いたがんの免疫療法の臨床研究を世界に先駆けて行い、その有用性を明らかにした。

A. 研究目的

ウィルムス腫瘍遺伝子WT1は、白血病やほとんどすべての種類の固形癌に発現する汎腫瘍抗原であることを見出し、HLA-A*2402拘束性WT1ペプチドを開発し、これを用いたがんの免疫療法の第I相臨床研究を世界に先がけて実施し、その安全性と有用性を確立した。本研究目的は癌腫毎の有用性を明確にし、本免疫療法を医療として確立することである。

B. 研究方法

WT1ペプチドワクチンとしては、HLA-A*2402拘束性改変型WT1ペプチド3.0 mg / body+モンタナイド・アジュバントのエマルジョンを用いる。

1. 第I相臨床研究の継続

2001年に開始した臨床研究において、3人のAML患者が長期生存（6年10ヶ月～7年）しており、これらの患者に対して継続投与する（このような例は、世界に例を見ない）。

2. 白血病や固形癌に対する第I/II相臨床研究

上記疾患に対してWT1ペプチドワクチン毎週1回、計12回皮下投与する。

3. 進行性膵癌に対するジェムザール併用した第I相臨床研究

ジェムザールの標準的療法（ジェムザール1000 mg / m²、3投4休）に0, 2, 4, 6週目にWT1ペプチドワクチンを投与する。

4. 骨髄異形成症候群（MDS）に対する少量WT1ペプチドワクチン療法の第I相臨床研究

MDSでは、WT1ペプチド300 μgの投与で急速に顆粒球（大部分が白血病細胞由来）が減少（著効を呈すると言える）し、敗血症の危険性がある。そこで、WT1ペプチドの投与量を減じた第I相臨床試験を開始した。WT1ペプチド5 μg / body、3人 → 15 μg / body、3人とdose-upする。2週間毎に計3回投与する

（倫理面への配慮）

本臨床研究は、すべて倫理委員会の承認のもとで行なわれており、倫理上問題はない。

C. 研究結果

1. 2001年に開始した第I相臨床研究で、分子再発時点でWT1ペプチドワクチンを投与し、有効であったAML 3人に対して、現在で6年10ヶ月～7年間継続投与しており、完全寛解が持続している。投与部位の発赤・腫脹以外、重篤な副作用は見られていない。

2. 再発グリオブラストーマ36例（全例が放射線照射済み）に対してWT1ペプチドワクチンを毎週1回、計12回投与。36例のうち、PR 2例、SD 19例、PD 15例であり、overall survival rateは13.9%、disease control rateは58.3%であった。254週と203週の2人は治癒の可能性が高い。全例において、重篤な副作用はみられない。

3. 進行性膵癌患者 22例（IVa 4例、IVb 15例、再燃3例）に対して、ジェムザール併用 WT1 ペプチドワクチン療法を施行したところ、PR 5例（23.8%）、SD 11例（52.4%）、PD 5例、評価不能 1例であった。Response rate 52.4%、disease control rate 76.2%であった。PRの2例は手術可能となり、そのうち1例は手術時摘出標本で残存腫瘍細胞が検出されず、組織学的完全寛解であった。ジェムザールによると思われる副作用以外特別なものはなかった。

4. MDS に対する少量 WT1 ペプチド投与の臨床研究では、5 μg 投与群では 2 例に臨床効果が出現（残り 1 例は評価不能）し、このうち 1 例は、現在まで 4 年 10 ヶ月にわたり継続投与している。15 μg 投与群では 1 例が白血病細胞が減少し、有効であった。他の 1 例は無効であり、残り 1 例は評価不能であった。予想どおり、WT1 ペプチドワクチンの投与により顆粒球の減少が生じるが、G-CSF の投与により回復させることが明らかになった。

D. 考察

WT1ペプチド免疫療法は、きわめて予後不良な再発グリオブラストーマや進行性膵癌に対しても臨床効果を出しうる事が明らかになった。これらの疾患に臨床効果が出現した背景として考えられることは、再発グリオブラストーマでは、前治療としてほとんど抗がん剤が投与されておらず、進行性膵癌においても大部分の症例が初発例であり、抗がん剤の前治療は行なわれていない。この

ように両疾患では、抗がん剤前治療がないか、あっても軽微であるので、患者の免疫能が温存されており、そのため臨床効果が出現しやすいと考えられるかもしれない。MDSは、stem cell leukemiaであるので、WT-CTLがWT1⁺ leukemic stem cellをkillすることにより著効を呈しやすいと考えられる。

E. 結論

1. WT1ペプチドワクチン療法は、重篤な副作用のない安全性の高い治療法である。
2. WT1ペプチドワクチン療法は、白血病、再発グリオブラストーマや進行性膵癌に対して臨床効果が期待しうる治療法である。
3. MDSなどのstem cell leukemia では、G-CSFを併用した少量WT1ペプチドワクチン療法が有効である。
4. WT1ペプチドワクチン療法は、抗がん剤が多量に使われるまでの免疫能が残存している時期に使用すべきである。

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

1. Tanaka-Harada Y, Kawakami M, Oka Y, Tsuboi A, Katagiri T, Elisseeva O, Nishida S, Shirakata T, Hosen N, Fujiki F, Murao A, Nakajima H, Oji Y, Kanda Y, Kawase I, Sugiyama H. Biased usage of BV gene families of T cell receptors of WT1 (Wilms' tumor gene)-specific CD8⁺ T cells in patients with myeloid malignancies, *Cancer Science*, in press.
2. Murao A, Oka Y, Tsuboi A, Elisseeva OA, Harada Y, Fujiki F, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Shirakata T, Hashimoto N, Myoui A, Ueda T, Takeda Y, Osaki T, Enomoto T, Yoshikawa H, Kimura T, Oji Y, Kawase I, Sugiyama H. High frequencies of less differentiated and more proliferative WT1-specific CD8⁺ T cells in bone marrow (BM) in tumor-bearing patients: an important role of BM as a secondary lymphoid organ. *Cancer Science*, in press.
3. Tamura H, Dan K, Yokose N, Iwakiri R, Ohta M, Sakamaki H, Tohyama K, Kondo A, Hyodo H, Nakamura K, Yamashita T, Elisseeva O. A, Oka Y, Oji Y, Sugiyama H, Ogata K. Prognostic Significance of WT1 mRNA and anti-WT1 Antibody Levels in Peripheral Blood in Patients with Myelodysplastic Syndromes. *Leukemia Research*, in press.
4. Ohta H, Hashii Y, Yoneda A, Takizawa S, Kusuki S, Tokimasa S, Fukuzawa M, Tsuboi A, Murao A, Oka Y, Oji Y, Aozasa K, Nakatsuka S, Sugiyama

H, Ozono K. WT1 (Wilms' tumor 1) peptide immunotherapy for childhood rhabdomyosarcoma, *Pediatric Hematology and Oncology*, 2009; 26: 74-83.

5. Ohno S, Dohi S, Ohno Y, Kyo S, Sugiyama H, Suzuki N, Inoue M. Immunohistochemical Detection of WT1 protein in endometrial cancer, *Anticancer Research* 2009; 29: 1691-5.

G. 知的財産等の出願・登録状況 (予定を含む。)

1. 特許取得
2. 実用新案登録
3. その他

研究分担者 荻野 尚 国立がんセンター東病院・臨床開発センター・粒子線医学開発部・部長

研究要旨

陽子線は高い線量集中性を示す物理特性を持っているが、現在の陽子線治療の方法では、この特性を十分に活かしきれていない。この特性を十分に活かした陽子線治療の実現には、腫瘍への確に照射するための技術・実際に照射された位置を確認するための技術・照射方法を正確にシミュレートするための技術が必須である。これらの技術を統合したシステムの構築により、治療室内において、治療直前または治療中の患者の状態に合わせた照射条件での適応治療：Dose volume adapted proton therapy (DAPT)を実現する。それによって、最先端技術を駆使した高精度の陽子線治療を患者へ提供することが出来る。

A：研究目的

最先端技術の研究開発を行い、DAPTを実現するためのシステムを構築し、患者へ高精度の陽子線治療を提供することが目的である。本年度は、患者体内における陽子線の照射された位置の確認及び照射方法を正確にシミュレートするシステムの構築のために、搭載する activity 分布及び線量分布計算アルゴリズムの研究開発を目的とした。

B：研究方法

B-1：患者体内で照射された領域を確認するシミュレーションシステム

これまでの研究成果により、開発された回転ガントリーポートに設置した beam on-line PET system (BOLPs-RGp) を利用し、陽子線照射による患者体内原子核の核破砕反応により生成されるポジトロン放出核の activity 分布測定から照射領域を可視化することが実現できた。その一方で、患者体内の照射領域で生成されるポジトロン放出核による activity 分布の計算を実施することは出来ていなかった。これまで、activity 分布の計算を実施する方法としては、モンテカルロ法を用いる手法がドイツの物理研究所を中心に実施されてきた。しかし、この手法においては、実臨床で要求される activity 分布の計算精度及び計算時間を満足するものではなかった。そ

こで、我々は、その要求を満足する新たな activity 分布計算アルゴリズムの考案及び開発を行った。

B-2：照射方法の正確なシミュレーションシステム

現在、陽子線治療においては、ペンシルビーム計算アルゴリズムによる線量計算法がスタンダードとされている。ペンシルビームアルゴリズムでは、特に患者体内中の不均質領域における線量計算精度が悪化する傾向にある。そこで、ペンシルビーム線量分布計算法を高精度化する線量計算アルゴリズムを考案及び開発を行った。

C：研究結果

C-1：患者体内で照射された領域を確認するシミュレーションシステム

Activity 分布をペンシルビーム化することで、高速・高精度で患者体内での activity 分布計算を実施出来る、Target Elemental Activity Pencil Beam Algorithm (TEA-PBA) を考案しアルゴリズムの基礎開発を実施した。人体を構成している主要素は、水素、炭素、窒素、酸素及びカルシウムである。その中で陽子線による原子核破砕反応で重要な要素は、炭素、酸素及びカルシウムの三種類の原子核である。炭素核を多く含むポリエチレン、酸素核を含む水、そしてカルシウム核を含む酸化

カルシウムを陽子線照射のターゲットとし、BOLPs-RGp による深部方向の activity 分布の実測データを用いて、物質中での陽子線のクーロン多重散乱効果を考慮することで activity 分布のペンシルビーム化を実施した。図 1 に炭素核に対する、陽子線のエネルギーごとの activity ペンシルビーム整形の結果を示す。

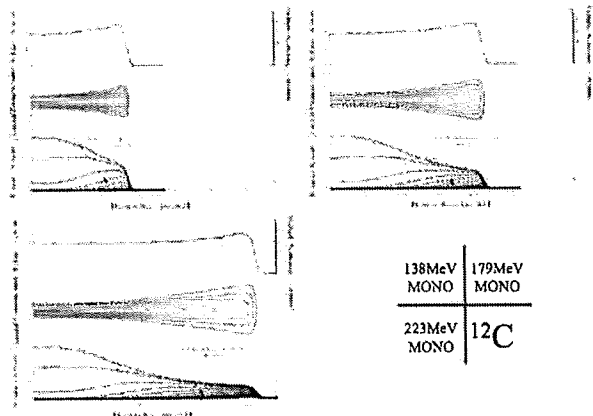


図 1 : 陽子線のエネルギーごとの炭素核に対するペンシルビーム化された activity 分布の結果。

C-2: 照射方法の正確なシミュレーションシステム

陽子線線量分布計算で利用しているペンシルビームアルゴリズムの線量計算精度を向上させるために、ガウス形状を持つ陽子線ペンシルビームをデルタ関数で細分割する手法、Delta-functional Multi Segmented Pencil Beam Algorithm (DMS-PBA) を考案した (図 2 参照)。ペンシルビームを構成する側方のガウス分布形状をデルタ関数で細分化することで、体内中での陽子線の流れを精密に再現することが可能となる。その結果、図 3 に示すような不均質物質における物質の境界領域において、DMS-PBA においては高密度部分とそうでない部分を通る陽子線がその部分で損失するエネルギーの差を計算することができ、プラグピークが 2 本となる現象を正しく再現していることが判る。

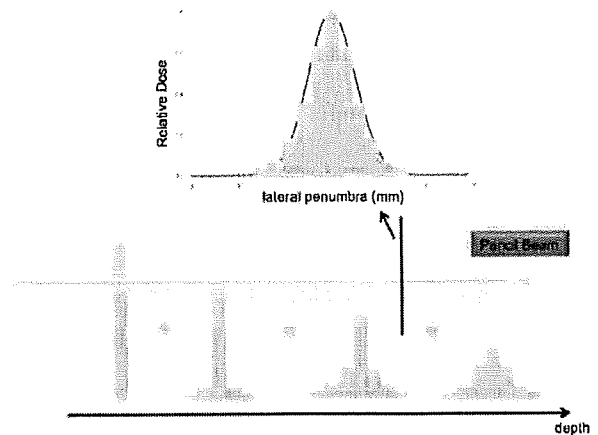


図 2 : DMS-PBA の概念図。

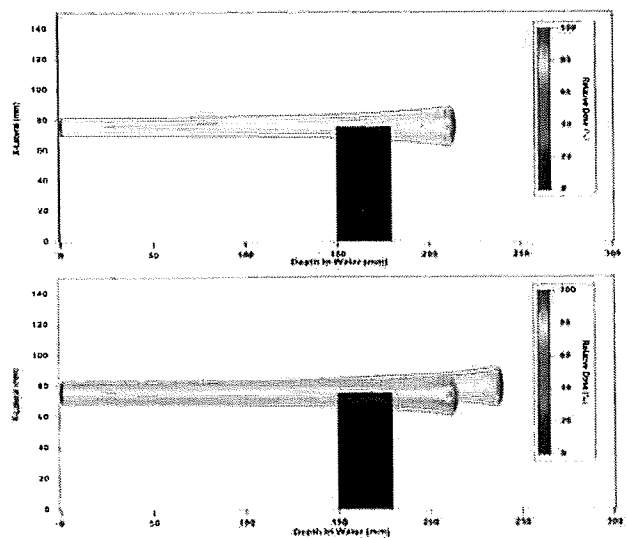


図 3 : 水中に高密度のバルクがあると想定した場合での、従来の Pencil Beam 線量分布計算法 (上) 及び DMS-PBA (下) による陽子線ペンシルビームの線量分布計算結果。

D: 考察

本研究において考案された activity 分布計算アルゴリズムである TEA-PBA 及び線量分布計算アルゴリズムである DMS-PBA によって、照射領域を確認するシステム及び照射方法を正確にシミュレートするシステム利用した高精度陽子線治療を患者へ提供可能となる。Activity 分布計算計算において、モンテカルロ法と比べ TEA-PBA では原子核破砕反応の反応率を実測することで精度向上に、また、ペンシルビーム化することで数日から数分へ計算時間の大幅な

短縮に繋がる。更に activity 分布の計算精度を向上させるには、患者個別で正確な人体構成要素を把握する必要がある。線量分布計算において、DMS-PBA では、体内中の深部に応じて散乱が大きくなるに従って、デルタ関数で再細分化する手法を取り入れることで、更に高精度の線量分布計算が可能になると期待できる。考案した TEA-PBA 及び DMS-PBA は、新規性と発展性を兼ね備えており、高精度陽子線治療の実現に大いに貢献すると思われる。

E: 結論

高精度の陽子線治療である DAPT を実現するため、患者体内における陽子線の照射された位置の確認及び照射方法を正確にシミュレートするシステムに搭載する、新しい activity 分布及び線量分布計算アルゴリズムの開発を行い、今回の研究目的は十分に達成された。

F: 研究発表

1. Nishio T., Miyatake A., Ogino T., Nakagawa K., Saijo N., Esumi H. The development and clinical use of a beam ON-LINE PET system mounted on a rotating gantry port in proton therapy. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 2009 in press.
2. Miyatake A., Nishio T., Ogino T., Saijo N., Esumi H., Uesaka M. Measurement and verification of positron emitter nuclei generated at each treatment site by target nuclear fragment reactions in proton therapy. Med. Phys. 2009 in submission.

G: 知的所有権の取得状況

1. 特許取得
 - (ア) 特願 2009-064295: 荷電粒子線照射制御装置及び荷電粒子線照射方法
 - (イ) 特願 2009-017114: 陽子線治療におけるポジトロン放出核種のアクティビティ分布のシミュレーション法

(ウ) 特開 2008-173299: 荷電粒子線照射装置、及び荷電粒子線照射方法

(エ) 特開 2008-173298: 荷電粒子線照射装置

(オ) 特開 2008-173297: 荷電粒子線照射装置

2. 実用新案登録

(ア) なし

3. その他

(ア) Nishio T., Miyatake, A. Inoue K., Katsuta S., Gomi-Miyagishi T., Kohno R., Kameoka S., Nakagawa K., Ogino T., "Experimental verification of proton beam monitoring in a human body by use of activity image of positron-emitting nuclei generated by nuclear fragmentation reaction", Radiological Physics and Technology (英文誌)、平成 20 年度優秀論文土井賞 (治療分野)、2009 年 4 月

precision-guided surgery (PGS:精密誘導手術)を誘導する技術の開発に関する研究

研究分担者 伊関 洋 東京女子医科大学先端生命医科学研究所・教授

研究要旨

悪性脳腫瘍の5年生存率を向上させるために、5アミノレブリン酸による光線力学的診断法とタラポルフィンによる光線力学治療による化学ナビゲーション・治療の研究を行っている。解剖学的情報（形態・位置）と機能的情報と組織学的情報を統合し、客観性・再現性のある最大限の摘出と最小限の侵襲による治療の質の高い手術治療の実現である。悪性脳腫瘍患者に対するME2906およびPNL6405CNSによる光線力学療法に関する臨床試験（課題番号：CCT-B-2003）（医師主導治験）を東京女子医科大学・東京医科大学のIRBの承認を受け、平成21年2月18日に厚生労働大臣への治験計画届書等を届出。治験を開始した。

A. 研究目的

悪性脳腫瘍の5年生存率は、GIV単独では7%程度、GIII+GIVを併せても18%であり、極めて予後が悪い。5年生存率を向上させるためには、言語や運動機能を温存しながら、最大限の摘出を図る必要がある。これを精密治療技術で実現する。光線力学診断だけでなく光線力学療法の臨床研究の実施と医療機器の医師主導治験を実施する。

B. 研究方法

悪性脳腫瘍の5年生存率は、GIV単独では7%程度、GIII+GIVを併せても18%であり、極めて予後が悪い。5年生存率を向上させるためには、言語や運動機能を温存しながら、最大限の摘出を図る必要がある。5-ALAの術中蛍光組織診断の可能性について、昨年度の蛍光強度分布と組織診断の基礎研究に続き、蛍光計測と病理診断の比較するための計測方法を確立し、標本にて比較した。レザフィリンとPDレーザによる光線力学治療を医師主導治験として実施した。手術方法の手順は、手術摘出予定時間の約24時間前に、レザフィリン静注後、PDレーザ 664nmによる光線力学診断で、残存腫瘍を表面からそぎ落とし、全摘出を目指す。さらに励起されなくなった時点で、境界内数mm内に残存する腫瘍細胞に光線力学治療を実施する。

（倫理面への配慮）

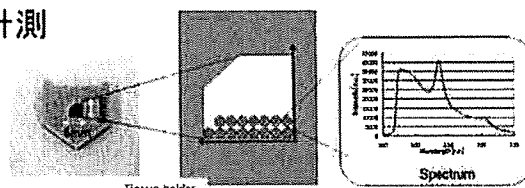
5-ALAと同様に、光線力学療法のためのレザフィリンを悪性脳腫瘍へ適用する臨床研究について、本学倫理委員会の承認を受けている。医師主導治験については、東京女子医科大学・東京医科大学のIRBの承認を受け、平成21年2月18日に厚生労働大臣への治験計画届書等を届出。同年3月21日より、治験計画届書提出から30日が経過したことから治験を開始した。

C. 研究結果

5-ALA（5アミノレブリン酸）が腫瘍細胞に取り込まれ代謝されPp IXになり、405nmのレーザー光により630nmの赤い励起光を発するspectrogramの情報（蛍光強度分布）と

病理組織学的診断情報とを比較検討を実施した。摘出された脳組織を容器に入れ、まず蛍光計測を実施する。組織標本と蛍光計測との位置合わせを工夫し、組織の歪み以外には問題となる変形や収縮が起こらない新鮮凍結切片法によって標本を作製し、蛍光計測と病理診断の比較するための計測方法を確立した（Fig. 1.）。

蛍光計測



病理診断

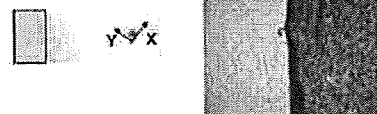


Fig. 1. 蛍光計測と病理診断の比較計測方法

病理所見と蛍光スペクトルの分布を標本で比較し、以下のような結果を得た。

1. 5mm角の組織の中でも、蛍光スペクトルの波形は大きく変化していることがわかった（Fig. 2）。

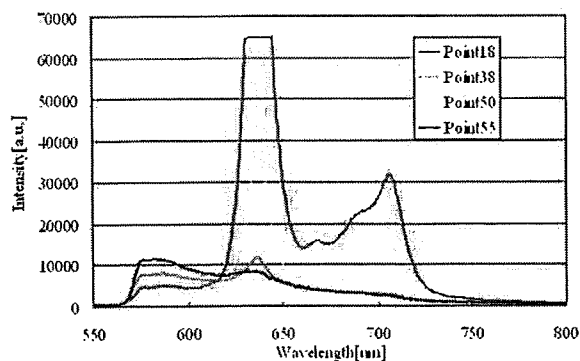


Fig. 2. 5mm角切片の0.8mm径の58点の蛍光スペクトルの

一部(4点)

2.False negative caseでは、腫瘍であるにも関わらず、PpIXの蛍光はほとんど検出できなかった(悪性度の低い症例)。

3.False positive caseでは、反応性星細胞を含む非腫瘍にもかかわらず、腫瘍組織と同程度以上の585nm付近の強度も高いPpIXの蛍光を発していた。

レザフィリンと664nmのPDレーザを使用した悪性脳腫瘍の光線力学診断・治療は、H21年4月より、東京医科大学と東京女子医科大学で光線力学治療の医師主導治験を実施した。現在までに11症例が実施された。

D. 考察

摘出組織の計測結果について考察すると、蛍光スペクトルの分布と病理診断を精確に比較することが可能となった。特に、分布を確認することにより、どの程度の範囲にPpIXが集積するかを検討することが可能となった。ある組織では1mm程度の局所的領域にある腫瘍にもPpIXが集積し、蛍光を発していることがわかった。5mm角の組織片の中でも蛍光スペクトルは大きく変化していることがわかった。他の先行研究では不可能であった、病理診断と蛍光スペクトルの精確な比較により、腫瘍判別に有効である特徴量を発見できる可能性が示された。様々な症例に対して計測を行い、5-ALA誘導PpIXの蛍光による腫瘍判別が適応可能な症例範囲を見出す必要がある。肉眼による観察ではFalse Positiveとして扱われる症例も、蛍光スペクトルを計測することで非腫瘍であることを特定できる可能性が示された。

E. 結論

局所的なスペクトル情報と病理診断の比較方法を検討した。

1. 摘出組織を用いてスペクトル計測と病理診断の比較を可能とする計測方法を確立した。
2. 5mm角の組織の中にも蛍光スペクトルの分布があることが示された。
3. 蛍光スペクトル計測は、5-ALAを用いた術中蛍光計測診断精度を向上できる可能性が示された。

F. 研究発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

- 1) Chernov M, Muragaki Y, Ochiai T, Taira T, Ono Y, Usukura M, Maruyam T, Nakay K, Nakamura R, Iseki H, Kubo O, Hori T, Takakura K, Spectroscopy-supported frame-based image-guided stereotactic biopsy of parenchymal brain lesions: Comparative evaluation of diagnostic yield and diagnostic accuracy. *Clinical Neurology and Neurosurgery* 111 2009; 527 - 535
- 2) Muragaki Y, Mikhail Chernov, Tajika Y, Kubo O,

Iseki H, Hori T, Takakura K, Coincidence of central neurocytoma and multiple glioblastomas, a rare case report. *J Neurooncol* 2009; 93:431- 435

3) Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Iseki H, Identification of the Pyramidal tract by Neuronavigation Based on Intraoperative Diffusion-Weighted Imaging Combined with Subcortical Stimulation. *Stereotact Funct Neurosurg* 2009; 87:18-24

4) Ozawa N, Muragaki Y, Nakamura R, Hori T, Iseki H, Shift of the Pyramidal Tract During Resection of the Intraaxial Brain Tumors Estimated by Intraoperative Diffusion-Weighted Imaging. *Neurol Med Chir(Tokyo)* 2009; 49 ;51-56

5) Ikuta S, Muragaki Y, Maruyama T, Ogata T, Iseki H, Assessment of Effect and Toxicity of Temozolomide Combined with Radiation Therapy for Newly-Diagnosed Glioblastoma in Japan. *J Tokyo Wom Med Univ.* 2009; 79(12):12-17

G. 知的財産等の出願・登録状況(予定を含む。)

1. 特許取得
無し

2. 実用新案登録
無し

3. その他
無し

体幹部定位照射における新しい計画・照射技術の開発に関する研究

研究分担者 永田 靖 広島大学大学院医歯薬学総合研究科 放射線腫瘍学教授

研究要旨

体幹部定位放射線照射についての国内現状調査では、5723例の内訳は原発性肺癌が3185例、転移性肺癌1553例、組織未確定肺腫瘍985例、線量分割法は48Gy/4回が61%と最多で、Grade5合併症は0.6%であった。また、広島大学に導入した四次元放射線治療システムの有用性を確認した。体幹部定位照射の進行期症例や呼吸機能不良症例への適応拡大が可能と考えた。

A. 研究目的

近年早期肺癌に対して、高精度照射技術を用いた体幹部定位放射線照射（いわゆるピンポイント照射）は広く普及しつつある。本研究では、早期肺癌に対する体幹部定位放射線照射の我が国における現状を把握するため、体幹部定位照射のアンケートによる現状調査を行う。また、広島大学において新たに導入した多列CT撮像装置、呼吸移動監視装置、画像誘導放射線治療器を用いた四次元CTおよび呼吸同期放射線治療の有用性について評価する。

B. 研究方法

我が国における体幹部定位放射線照射のアンケート現状調査を施行した。アンケート内容は、過去の治療内訳、照射線量、治療に伴う合併症とした。発送施設中89施設（79%）より回答を得た。

また、広島大学に新規に導入した放射線治療装置システムを用いて、四次元CTおよび呼吸同期照射の有用性について評価した。まず、四次元CT画像の作成は以下のごとく行った。新規導入した多列CT撮像装置と呼吸移動監視装置を用いて、呼吸による胸部運動のデータと、複数断面のCT画像を取得する。取得したデータを画像処理し、呼吸運動と一致したCT画像を作成した。呼吸同期放射線治療計画では、一回の呼吸を10位相に分割し、終末呼吸での三位相を照射の呼吸位相とした。対応する呼吸位相でのCT画像を用いて、標的（腫瘍）を描出し、それを肉眼的腫瘍容積として放射線治療計画を作成した。

検討項目は、①肺癌症例における安静呼吸下での4秒スキャンCT画像、4次元CTによるMIP(maximum intensity projection image)像の比較、②肺癌症例の放射線治療計画における呼吸同期照射と安静呼吸下照射の内的標的容積および肺V20の比較、とした。

(倫理面への配慮)

本研究においては、倫理面に十分配慮して行っている。

C. 研究結果

我が国における体幹部定位放射線照射のアンケート調査の結果を以下に示す。過去の治療内訳は、原発性肺癌3185例、転移性肺癌1553例、組織未確定肺腫瘍985例であった。原発性肺癌の病期は、T1NOMOが1719例、T2NOMO

が739例、その他が208例であった。照射線量については、35施設（61%）が48Gy/4分割、10施設（18%）が、50Gy/5分割の分割法で照射されていた。重篤な合併症（Grade 5）としては肺臓炎が28例、肺出血が3例、食道炎が1例、その他4例報告され、全5723例中36例（0.6%）であった。広島大学に新規に導入した放射線治療装置システムを用いた四次元CTおよび呼吸同期照射の有用性についての評価では、肺癌5症例における安静呼吸下での4秒スキャンCT画像、4次元CTによるMIP像の比較を行った。5症例すべてにおいて、これまでの安静呼吸下照射で使用していた4秒スキャンCT画像と比較して、四次元CTにおけるMIP像での腫瘍容積が大きくなった。このことから四次元CTを用いたMIP像では、4秒スキャンでは得られない真のITVが取得可能であると考えた。また、四次元CTを用いた呼吸同期照射と安静呼吸下照射の治療計画を肺癌3症例で行った結果からは、呼吸同期照射において内的標的容積の減少に伴う治療体積の減少と肺合併症の指標となる肺V20の減少が得られた。この呼吸同期照射により、体幹部定位照射の進行期症例や呼吸機能不良症例への適応拡大、肺癌以外の疾患への適応拡大が期待できる。

D. 考察

全国アンケート調査の結果、すでに5700例を超える症例が体幹部定位照射で治療されており、致命的合併症は0.6%であり、2年前の調査と不変であった。また、広島大学に導入した新規治療システムの評価にて、四次元CTおよび呼吸同期照射の有用性を確認した。体幹部定位照射にこれらの治療技術を導入することで、進行期症例や呼吸機能不良症例への適応拡大や、肺癌以外の疾患への適応拡大が期待される。また、縦隔近傍肺癌に対する最適な照射分割法の決定、定位照射前後の追加治療、再発時の後治療、等の検討も必要である。

E. 結論

我が国では、5700例を超える症例に体幹部定位照射が行われており、本治療施行の現状とその安全性が確認された。他方で、縦隔近傍肺癌への対応、追加治療の必要性、後治療の選択、等の未解決な問題点もある。また新システムを用いた四次元治療計画によって、進行期肺癌症例や肺癌以外の疾患への体幹部定位放射線照射の適応拡大

が可能と考えた。

F. 研究発表

- 1) Nagata Y, Hiraoka M, Mizowaki T, Narita Y, Matsuo Y, Norihisa Y, Onishi H, Shirato H. Survey of stereotactic body radiation therapy in Japan by the Japan 3-D Conformal External Beam Radiotherapy Group. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 343-347.
- 2) Inoue T, Shimizu S, Onimaru R, Takeda A, Onishi H, Nagata Y, Kimura T, Karasawa K, Arimoto T, Hareyama M, Kikuchi E, Shirato H. Clinical Outcomes of Stereotactic Body Radiotherapy for Small Lung Lesions Clinically Diagnosed as Primary Lung Cancer on Radiologic Examination. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 683-687.
- 3) Nakamura M, Narita Y, Matsuo Y, Narabayashi M, Nakata M, Sawada A, Mizowaki T, Nagata Y, Hiraoka M. Effect of audio coaching on correlation of abdominal displacement with lung tumor motion. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 558-563.
- 4) Kaneyasu Y, Nagai N, Nagata Y, Hashimoto Y, Yuki S, Murakami Y, Kenjo M, Kakizawa H, Toyota N, Fujiwara H, Kudo Y, Ito K. Intra-arterial infusion chemotherapy using cisplatin with radiotherapy for Stage III squamous cell carcinoma of the cervix. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 369-377.
- 5) Kenjo M, Uno T, Murakami Y, Nagata Y, Oguchi M, Saito S, Numasaki H, Teshima T, Mitsumori M. Radiation therapy for esophageal cancer in Japan: results of the Patterns of Care Study 1999-2001. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 2009; 75: 357-363.
- 6) Sakamoto T, Oya N, Shibuya K, Nagata Y, Hiraoka M. Dose-response relationship and dose optimization in radiotherapy of postoperative keloids. *Radiotherapy and Oncology* 2009; 91: 271-276.
- 7) Matsuura K, Kimura T, Kashiwado K, Fujita K, Akagi Y, Yuki S, Murakami Y, Wadasaki K, Monzen Y, Ito A, Kagemoto M, Mori M, Ito K, Nagata Y. Results of a preliminary study using hypofractionated involved field radiation therapy and concurrent carboplatin/paclitaxel

in the treatment of locally advanced Non-Small-Cell lung cancer. *Int J Clin Oncol* 2009; 14: 408-415.

- 8) Numasaki H, Teshima T, Shibuya H, Nishio M, Ikeda H, Ito H, Sekiguchi K, Kamikonya N, Koizumi M, Tago M, Nagata Y, Masaki H, Nishimura T, Yamada S. National structure of radiation oncology in Japan with special reference to designated cancer care hospitals. *Int J Clin Oncol* 2009; 14: 237-244.

G. 知的財産等の出願・登録状況（予定を含む。）

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（第3次対がん総合戦略研究事業）
分担研究報告書

分担研究課題：高精度放射線治療を含む臨床研究における精度管理システムの開発

研究分担者 角 美奈子 国立がんセンター中央病院 放射線治療部医長

研究要旨

新たに開発される放射線治療技術の評価を的確かつ迅速に推進するには、安全性や治療成績の評価を適切に実施していく必要がある。本研究では高精度放射線治療を対象に、臨床研究に必要な精度管理を目的としたシステムの開発を行うことを目的としている。本年度は、①治療実施時に装置に記録される情報を利用した精度管理と②高精度放射線治療の臨床研究における精度管理の応用について検討した。

本年度の成果により、治療実施時に装置に記録される情報により三次元原体照射および定位放射線照射の検証は可能であるが、強度変調放射線治療(Intensity modulated radiotherapy 以下、IMRT)では技術的な問題が存在することが明らかとなった。また IMRT の臨床研究に本研究を応用することにより、よりよい治療計画策定の可能性が示唆された。

これまでの本研究における精度管理システムの開発により、放射線治療の進歩に必要な臨床研究の実施において、治療内容の検証を可能とする仕組みの作成が重要な役割を果たすことが現実となってきた。今後の高精度放射線治療の新規技術開発では、増加する治療件数に伴う検証に必要な時間の最適化を行っていくことにより、需要の増大への対応を図ることも目的とした検討が必要と考えられる。

A. 研究目的

新たに開発される放射線治療装置や治療方法などをはじめとする技術の評価を的確かつ迅速に推進するには、安全性や有効性など治療成績の評価を適切に実施していく必要がある。

定位放射線照射や強度変調放射線治療(Intensity modulated radiotherapy 以下、IMRT)および画像誘導放射線治療(Image guided radiation therapy 以下、IGRT)などは、高精度放射線治療として臨床応用がさか

んな分野のひとつである。しかし臨床医学において放射線治療で最も問題となることは、その評価方法がいまだに確立していない事でもある。

本研究は高精度放射線治療を対象に臨床研究に必要な画像情報と放射線治療計画・治療の融合に関する適切な精度管理を目的としたシステムの開発を行っている。治療成果を検討するためにはよく計画された臨床試験による評価が必要である。放射線治療に関する臨床試験においては、QA/QC の実施が課題のひ

とつとなっており、本研究では問題解決の一環として精度管理のシステム化を行っている。本年度は放射線治療を実施した際に記録される治療実施情報を利用し、放射線治療の精度管理についての検討が応用することが可能であるか検討した。さらに高精度放射線治療の臨床研究に精度管理結果の応用が可能であるか検討した。

B. 研究方法

本研究では、放射線画像・治療計画・治療実施の情報としての融合を、一連のシステムの中で検討している。画像情報と放射線治療計画および治療実施の安全な連携に関する因子を解析し、臨床研究上適切な精度管理を目的としたシステムの構築が必要と考えるものである。

具体的な精度管理が必要な項目として、①治療計画画像情報取得時の患者位置情報管理、②治療計画装置上での情報管理、③治療実施時の情報管理、④治療の効果及び副作用の追跡など治療結果に関する情報管理を一元的に精度管理可能なシステム開発を検討している。

研究計画に従い、初年度の①治療計画画像情報取得時の情報管理、昨年度の②治療計画装置上での情報管理にひきつづき、本年度は③治療実施時に装置に記録される情報を利用した精度管理について検討を行った。さらに、高精度放射線治療の臨床研究における精度管理の検討として、IMRTとIGRTの両者を応用している前立腺癌の治療計画策定への評価を行った。

(倫理面への配慮)

本研究においては、臨床研究においては施設のIRBに審査を依頼し了承の下研究を行う

こととしている。また個人を特定可能とする情報は情報収集の範囲外とし、情報管理には十分な配慮を尽くして行っている。

C. 研究結果

①治療実施時に装置に記録される情報を利用した精度管理

本研究のシステムでは、治療装置が実施した内容について治療実施情報を抽出し、治療装置とは別のシステムでデータ管理を行うことを可能とした。すなわち、従来治療装置のみが保存していた治療内容を別システムが管理することにより、本研究システムでは治療計画と治療実施内容との比較検証が可能となった。

本システムの運用の結果、三次元原体照射および定位放射線照射に関し放射線治療実施内容の検証が可能であった。然るに、IMRTでは治療実施情報の転送が困難であることが明らかとなった。原因の解析を行った結果①IMRTはきわめて治療実施情報量が大きいこと、②本システムが治療装置より情報を取得する時間が長いことに課題があることが判明した。解決策として情報の取捨選択による精度管理システムの構築と、システム自体の高速化を検討中である。

②高精度放射線治療の臨床研究における精度管理の応用

IMRTの臨床研究に本研究を応用することにより、臨床試験における放射線治療の精度管理開発の一環としての精度管理システムの応用について検討した。超音波システムによりTargetである前立腺と膀胱および直腸のリスク臓器の位置関係を抽出するIGRTと、前立腺本体には十分な線量を投与しつつ、膀胱およ

び直腸の正常組織の線量は一定以下に IMRT で低減する治療を実施している。

前立腺癌放射線治療計画 29 例について、治療計画および電離箱およびフィルムを用いた治療計画検証結果を検討した。物理士と放射線腫瘍医による検証の結果、Target および直腸・膀胱線量のトレンドの評価により、よりよい治療計画策定の可能性が示唆されている。今後はさらに有害事象の、低減と治療成績の向上が検討・立証されるべき全骨盤照射症例において、臨床試験を検討している。

D. 考察

放射線治療では精度管理が治療内容に直接影響し、その効果および有害事象に関連する点で、精度管理の評価には透明性が確保される必要がある。本研究の目的である精度管理システムの開発は、今後の放射線治療の進歩に必要な臨床研究の実施において治療内容の検証を可能にする点で、重要な役割を果たすことが期待される。

本研究で開発している放射線治療情報管理システムは今後、①悪性神経膠腫に対する高精度放射線治療の実施可能性に関する研究、および②高リスク前立腺癌における全骨盤照射を含む IMRT の安全性および有用性に関する研究にて、付随研究としてシステムの評価を進める予定である。

今後導入を予定している放射線治療の新規技術開発では、精度管理検証時間の短縮に関する研究が必須であると考えている。研究の方向としては、増加する治療件数に伴う検証に必要な時間を最適化し、需要の増大への対応を図ることを目的とした臨床開発が必須と考えられる。

E. 結論

これまでの本研究における精度管理システムの開発により、放射線治療の進歩に必要な臨床研究の実施において、治療内容の検証を可能とする仕組みの作成が重要な役割を果たすことが現実となってきた。

今後の高精度放射線治療の新規技術開発では、増加する治療件数に伴う検証に必要な時間の最適化を行っていくことにより、需要の増大への対応を図ることも目的とした検討が必要と考えられる。

G. 研究発表

1. 論文発表

Sanuki-Fujimoto N, Sumi M, Ito Y, Imai A, Kagami Y, Sekine I, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T, Ikeda H. Relation between elective nodal failure and irradiated volume in non-small-cell lung cancer (NSCLC) treated with radiotherapy using conventional fields and doses. *Radiotherapy and Oncology*. 2009; 91(3): 433-437.

Sekine I, Sumi M, Ito Y, Tanai C, Nokihara H, Yamamoto N, Kunitoh H, Ohe Y, Tamura T., Gender Difference in Treatment Outcomes in Patients with Stage III Non-small Cell Lung Cancer Receiving Concurrent Chemoradiotherapy. *Jpn J Clin Oncol*. 2009; 39(11): 707- 712.

Itami J, Sumi M, Beppu Y, Chuman H, Kawai A, Murakami N, Morota M, Mayahara H, Yoshimura R, Ito Y. High-Dose-Rate