

## がん特異的蛍光発現ウイルス製剤による診断研究に関する研究

### －抗癌剤併用ウイルス療法の前臨床研究－

研究分担者 藤原 俊義 岡山大学大学院医歯薬学総合研究科 消化器外科学 教授

#### 研究要旨

高齢者や併存疾患が多い局所進行食道癌に対する標準治療は未だ確立されておらず、何らかの新規治療法の開発が望まれているのが現状である。平成25年度には、岡山大学病院で進行食道癌、頭頸部癌を対象に、テロメラーゼ活性依存性に癌細胞のみで選択的に増殖して腫瘍融解を引き起すウイルス製剤 Telomelysin と放射線治療を併用する臨床研究を開始した。本研究では、今後の放射線化学療法との併用のための前臨床研究として、各種抗癌剤と Telomelysin の相乗効果を検討した。抗癌剤（5-FU あるいはシスプラチン）を先行、Telomelysin を先行、両者を同時投与の3群の容量依存曲線から CI（combination index）を算出して比較したところ、Telomelysin 先行後にシスプラチンを投与するスケジュールで効果的な相乗効果が認められた。Telomelysin は従来の抗癌剤とは全く作用機序の異なる生物製剤であり、臨床的に低侵襲な局所制御療法として食道癌および頭頸部癌などの難治癌患者の生活の質（QOL）の向上に貢献すると期待される。

#### A. 研究目的

Telomelysin はウイルスの生活環に由来する巧妙な分子機構を基盤とする遺伝子改変生物製剤であり、従来の抗癌治療とは全く異なる作用機序を有することから独創性の高いシーズである。Telomelysin は癌細胞の放射線による DNA 傷害の修復を阻害することで放射線感受性を増強し（Kuroda *et al*, *Cancer Res.*, 2010）、また腫瘍内に投与された Telomelysin はリンパ流に乗って所属リンパ節領域に拡散する（Kishimoto *et al*, *Nature Ned.*, 2006）。さらに、ヒトへの Telomelysin 局所投与の安全性は、米国食品医薬品局（US FDA）の承認のもと、2006 年より米国で実施した各種固形癌に対する第 I 相臨床試験で実証されている（Nemunaitis *et al*, *Mol. Ther.*, 2010）。本研究では、前臨床研究として各種抗癌剤と Telomelysin の相乗効果を検討し、今後の集学的治療としての Telomelysin の有用性を検証する。

#### B. 研究方法

食道癌細胞株をはじめとして各種癌細胞、肉腫細胞などを用いて、各種抗癌剤と Telomelysin の併用効果を検討した。容量依存曲線を作成し、CI（combination index）を算出することで相乗効果の確認を行った。また、抗癌剤先行、Telomelysin 先行、あるいは同時投与など投与スケジュールと投与量を比較し、至適プロトコルを検討した。

#### （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

メスキャンを用いた研究は「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。平成24年6月、期間延長のため再度申請し、文部科学省にて拡散防止措置の確認を得ている。

#### C. 研究結果

上皮系腫瘍細胞として、食道癌細胞株（TE8、SEG1）を用いて検討を行ったところ、Telomelysin と 5-FU、シスプラチンの併用で TE8 ヒト食道扁平上皮癌細胞株、SEG1 ヒト食道腺癌細胞株、いずれでも相乗効果が認められた。また、抗がん剤先行、同時投与、Telomelysin 先行の3パターンを比較したところ、Telomelysin 先行後に抗癌剤を投与するスケジュールにおいて、より効果的な相乗効果を認めた。

非上皮系腫瘍細胞として骨肉腫細胞株（HOS、MNNG/HOS、143B、SaOS-2）を用いて、各種抗癌剤（シスプラチン、5-FU、ドキシソルビシン）と Telomelysin の併用効果を検討したところ、Telomelysin とドキシソルビシン、シスプラチンの併用ですべての骨肉腫細胞で相乗効果が認められた。

#### D. 考察

Telomelysin は癌細胞で選択的に増殖・複製する機能を有しており、自立的に癌細胞を破壊することで増殖したウイルスが拡散していく。テロメラーゼという多くのヒト癌細胞で活性化されている分子を標的として用いることで、広範な癌種に対

応することが可能である。また、Telomelysin による細胞死は、放射線や抗癌剤によるアポトーシスとは異なるオートファジーなどの機序により生じるため、既存の治療法に耐性の癌細胞にも有効であると推測される。

本研究で、実際に上皮系の食道癌細胞ならびに非上皮系の骨肉腫細胞で Telomelysin と抗癌剤（シスプラチン、5-FU、ドキシソルビシン）の相乗効果が明らかとなり、また Telomelysin を先行するプロトコールでより顕著な効果が観察された。今後は、Telomelysin が抗癌剤の感受性を増強するメカニズムについて詳細な解析を行っていくとともに、ヌードマウスと各種癌細胞株を用いて背部腫瘍あるいは同所性腫瘍モデルを作成し、*in vivo* における抗癌剤の全身投与と Telomelysin の局所投与の併用効果を検討していく予定である。

Telomelysin は従来の抗癌剤とは全く作用機序の異なる生物製剤であり、難治癌である食道癌や頭頸部癌に対する放射線化学療法にウイルス療法を併用する集学的治療を確立することで、より低侵襲な局所制御療法として患者の生活の質（QOL）の向上に貢献すると期待される。

#### E. 結論

Telomelysin は、上皮系および非上皮系ヒト悪性腫瘍細胞において、抗癌剤と相乗効果を示す。

#### F. 研究発表

- 1) Sasaki, T., Tazawa, H., Hasei, J., Osaki, S., Kunisada, T., Yoshida, A., Hashimoto, Y., Yano, S., Yoshida, R., Kagawa, S., Uno, F., Urata, Y., Ozaki, T., Fujiwara, T. A simple detection system for adenovirus receptor expression using a telomerase-specific replication-competent adenovirus. *Gene Ther.*, 20: 112-118, 2013.
- 2) Hasei, J., Sasaki, T., Tazawa, H., Osaki, S., Yamakawa, Y., Kunisada, T., Yoshida, A., Hashimoto, Y., Onishi, T., Uno, F., Kagawa, S., Urata, Y., Ozaki, T., Fujiwara, T. Dual programmed cell death pathways induced by p53 transactivation overcome resistance to oncolytic adenovirus in human osteosarcoma cells. *Mol. Cancer Ther.*, 12: 314-325, 2013.
- 3) Ohara, T., Noma, K., Urano, S., Watanabe, S., Nishitani, S., Tomono, Y., Kimura, F., Kagawa, S., Shirakawa, Y., Fujiwara, T. A novel synergistic effect of iron depletion on anti-angiogenic cancer therapy. *Int. J. Cancer*, 132: 2705-2713, 2013.
- 4) Shigeyasu, K., Kagawa, S., Uno, F., Nishizaki, M., Kishimoto, H., Gochi, A., Kimura, T., Takahata, T.,

Nonaka, Y., Ninomiya, M., Fujiwara, T. Multicenter phase II study of S-1 and docetaxel combination chemotherapy for advanced or recurrent gastric cancer patients with peritoneal dissemination. *Cancer Chemother. Pharmacol.*, 71: 937-943, 2013.

- 5) Nobuoka, D., Yoshikawa, T., Takahashi, M., Iwama, T., Horie, K., Shimomura, M., Suzuki, S., Sakemura, N., Nakatsugawa, M., Sadamori, H., Yagi, T., Fujiwara, T., Nakatsura, T. Intratumoral peptide injection enhances tumor cell antigenicity recognized by cytotoxic T lymphocytes: a potential option for improvement in antigen-specific cancer immunotherapy. *Cancer Immunol. Immunother.*, 62: 639-652, 2013.
- 6) Li, G.D., Kawashima, H., Ogoose, A., Ariizumi, T., Hotta, T., Kuwano, R., Urata, Y., Fujiwara, T., Endo, N. Telomelysin shows potent antitumor activity through apoptotic and non-apoptotic cell death in soft tissue sarcoma cells. *Cancer Sci.*, 104: 1178-1188, 2013.
- 7) Yano, S., Tazawa, H., Hashimoto, Y., Shirakawa, Y., Kuroda, S., Nishizaki, M., Kishimoto, H., Uno, F., Nagasaka, T., Urata, Y., Kagawa, S., Hoffman, R. M., Fujiwara, T. A genetically engineered oncolytic adenovirus decoys and lethally traps quiescent cancer stem-like cells into S/G2/M-phases. *Clin. Cancer Res.*, 19:6495-6505, 2013.
- 8) Hashimoto, Y., Tazawa, H., Teraishi, F., Kojima, T., Watanabe, Y., Uno, F., Yano, S., Urata, Y., Kagawa, S., Fujiwara, T. The hTERT promoter enhances the antitumor activity of an oncolytic adenovirus under a hypoxic microenvironment. *PLoS One*, 7: e39292, 2012.

#### 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

## 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機能診断科学 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 WT 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。特に白血病、骨髄異形成症候群、脳腫瘍や膵癌で有効性が高かった。切除不能進行性膵癌に対しては、WT1 ワクチン+ジェムザール対ジェムザール単独の非盲検ランダム化第II相臨床研究が進行中である。

### 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（下記の1-3の臨床研究）。

### 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（10年8ヶ月～10年9ヶ月）しており、これらの患者に対して継続投与あるいは、経過観察をする（このような例は、世界に例を見ない）。

#### 2. 再発グリオブラストーマに対するII相臨床研究

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 / m<sup>2</sup>、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. 切除不能進行性膵癌に対するWT1+ジェムザール対ジェムザール単独のランダム化第II相試験。

HLA-A\*24:02 あるいは HLA-A\*02:01 陽性の切除不能進行性膵癌患者 150名をジェムザール標準療法にWT1 ペプチドワクチンを2週

間毎に投与する群と、ジェムザール標準療法群とに、1:1で非盲検ランダム化する。primary endpoint として1年後生存率、secondary endpoint として全生存率を見る。

#### 5. 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 300μg 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 5μg / body、3人 → 15μg / 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）

### C. 研究結果

- 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AML3人に対して、8年、9年7ヶ月、7年10ヶ月投与し、それぞれ、10年8ヶ月、10年7ヶ月、10年7ヶ月完全寛解が持続している。これらの3人では分子レベルでの微小残存病変も検出できず、治癒の可能性が高い。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。
- 再発グリオブラストーマ65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。65例のうち、CR 1例、PR 2例、SD 28例、PD 34例であり、overall survival rateは4.6%、disease control rateは47.7%であった。SD 28人のうち7人はlong SDであり、このうち4人のPFSは416週、410週、184週、130週

で、生存中である。全例において、WT1ペプチドワクチン投与部位の発赤以外、重篤な副作用はみられない。

3. 進行性膵癌患者32例 (IVa 6例、IVb 22例、再燃3例、評価不能1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 7例 (21.9%)、SD 17例 (53.1%)、PD 7例(21.9%)、評価不能1例であった。Response rate 21.9%、disease control rate 75.0%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。このPR 2例は、70.8ヶ月、63.9ヶ月生存中である。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。WT1ペプチドに対する遅延型アレルギー反応 (DTH) が出現した群では長期生存者が存在するが、DTHが出現しなかった群では、長期生存者は皆無であり、DTH反応と予後の相関が見られた。現在、ジェムザール単独とジェムザール+WT1ワクチンの2群の臨床効果を比較するためのランダム化第II相臨床研究を行っている。
4. 切除不能進行性膵癌に対する WT1+ジェムザール対ジェムザール単独の非盲検ランダム化第II相臨床研究は、現在進行中で、26年度中に中間解析を予定している。副作用としては、ジェムザールと考えられる副作用以外の副作用は見られていない
5. MDSに対する少量WT1ペプチド投与の臨床研究では、5 $\mu$ g投与群では2例に臨床効果が出現し、このうち1例は、現在まで6年7ヶ月にわたり継続投与している。残り1例はNo changeであった。15 $\mu$ g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2例はNo changeであった。15 $\mu$ g投与の4人では、1人が有効、1人がPDで、残り2人はNo changeであった。50 $\mu$ g投与の4人では、1人が有効、1人がPDで、残り2人は不変であった。MDSがheterogenousであるため、効果に個人差があり、推奨用量を決定することができなかった。5 $\mu$ g/bodyを7年8ヶ月にわたり継続投与している1例においては、WT1ワクチン投与から8年8ヶ月、寛解が持続しており、WT1ペプチドワクチンの投与部位の発赤、腫脹以外、重篤な副作用は見られていない。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たが、G-CSFの投与により回復させることが明らかになり、本療法の安全性が明らかになった。以上のデータをふまえ、初期量を50 $\mu$ g/bodyに設定した新第I相臨床研究を開始した

が、現時点では、まだ症例数が少なくデータをまとめられる状況でない。

#### 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ということが明らかになった。これらの進行癌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現時点では考えている。さらに、進行性膵癌の治療で併用しているジェムザールが、免疫抑制性細胞を抑制することで免疫能を上げるとともに、ジェムザールが、膵癌細胞のWT1タンパクの発現を上げ、癌細胞の免疫原性を高めることも明らかになってきた。MDSでは、stem cell leukemiaであるので、WT-CTLがWT1<sup>+</sup>leukemic stem cellをkillすること及び、MDSでは治療前にWT1-CTLがすでにクローナルな増殖をしていることにより臨床効果が出やすいと考えられる。

今後は、白血病、グリオブラストーマ、肺癌や卵巣がんに対して抗がん剤や手術後の寛解時にWT1ワクチン投与を開始する臨床研究や医師主導治験を進める予定である。

#### 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。切除不能進行性膵癌に対しては、ランダムマイズド臨床研究が進行中である。
3. stem cell leukemiaであるMDS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り、WT1ペプチド50 $\mu$ g/bodyは安全量であることが判明した。
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と考えられる。

#### F. 研究発表

1. 論文発表
- 1) Nishida S, Koido S, Takeda Y, Honma S, Kimita H, Takahara A, Morita S, Ito T, Morimoto S, Hara K,

- Tsuboi A, Oka Y, Yanagisawa S, Toyama Y, Ikegami M, Kitagawa T, Eguchi H, Wada H, Nagano H, Nakata J, Nakae Y, Hosen N, Oji Y, Tanaka T, Kawase I, Kumanogoh A, Sakamoto J, Doki Y, Mori M, Ohkusa T, Tajiri H, Sugiyama H. Wilms Tumor Gene 1 (WT1) Peptide-based Cancer Vaccine Combined With Gemcitabine for Patients With Advanced Pancreatic Cancer. *J Immunother.*, in press.
- 2) Maeda T, Hosen N, Fukushima K, Tsuboi A, Morimoto S, Matsui T, Sata H, Fujita J, Hasegawa K, Nishida S, Nakata J, Nakae Y, Takashima S, Nakajima H, Fujiki F, Tatsumi N, Kondo T, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kanakura Y, Kumanogoh A and Sugiyama H. Maintenance of complete remission after allogeneic stem cell transplantation in leukemia patients treated with Wilms tumor 1 peptide vaccine. *Blood Cancer Journal.*, 2013, 3: e130.
  - 3) Ueda Y, Mizutani C, Nannya Y, Kurokawa M, Kobayashi S, Takeuchi J, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kanakura Y, Niimi K, Sasaki K, Watanabe M, Emi N, Teramura M, Motoji T, Kida M, Usuki K, Takada S, Sakura T, Ito Y, Ohyashiki K, Ogawa H, Suzuki T, Ozawa K, Imai K, Kasai M, Hata T, Miyazaki Y, Morita Y, Kanamaru A, Matsuda A, Tohyama K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F. Clinical evaluation of WT1 mRNA expression levels in peripheral blood and bone marrow in patients with myelodysplastic syndromes. *Leuk Lymphoma.*, 2013, 54(7): 1450-1458
  - 4) Tachino S, Fujiki F, Oka Y, Tsuboi A, Morimoto S, Lin Y, Tamanaka T, Kondo K, Nakajima H, Nishida S, Hosen N, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. Functional human Th17 clones with WT1-specific helper activity. *Cancer Immunol Immunother.*, 2013, 62(4): 801-10.
  - 5) Lin Y, Fujiki F, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tani S, Nakajima H, Tatsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H. HLA-DPB1\*05:01-restricted WT1332-specific TCR-transduced CD4(+) T lymphocytes display a helper activity for WT1-specific CTL induction and a cytotoxicity against leukemia cells. *J Immunother.*, 2013, 36(3):159-170.
  - 6) Miyatake T, Ueda Y, Morimoto A, Enomoto T, Oka Y, Nishida S, Tsuboi A, Shirakata T, Oji Y, Hosen N, Aozasa K, Morita S, Sakamoto J, Sugiyama H, Kimura T. WT1 Peptide Immunotherapy for Gynecologic Malignancies Resistant to Conventional Therapies: a Phase II trial. *J Cancer Res Clin Oncol.*, 2013, 139(3): 457-463.
  - 7) Anguille S, Fujiki F, Smits EL, Oji Y, Lion E, Oka Y, Berneman ZN, Sugiyama H. Identification of a Wilms' tumor 1-derived immunogenic CD4(+) T-cell epitope that is recognized in the context of common Caucasian HLA-DR haplotypes. *Leukemia.*, 2013, 27(3):748-750.
2. 学会発表
- 1) Hashii Y, Watanabe A, Tsuboi A, Oji Y, Hosen N, Miyamura T, Oka Y, Ozono K, Sugiyama H: Clinical study of WT1 peptide vaccination for pediatric leukemia after stem cell transplantation, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 13, 2013.
  - 2) Kobayashi S, Ueda Y, Kurokawa M, Tamura H, Ogata K, Dan K, Shibayama H, Kihara R, Emi N, Motoji T, Sasaki K, Usuki K, Ogawa H, Sakura T, Ohyashiki K, Ogawa K, Imai K, Miyazaki Y, Morita Y, Matsuda A, Toyama K, Kakumoto K, Koga D, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H: WT-1 expression level in BM is the great prognostic marker with Revised IPSS, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 11, 2013.
  - 3) Kondo A, Tamura H, Inokuchi K, Ogata K, Kakumoto K, Matsuda A, Tohyama K, Ueda Y, Kurokawa M, Takeuchi J, Shibayama H, Emi N, Motoji T, Miyazaki Y, Tamaki H, Mitani K, Naoe T, Sugiyama H, Takaku F: Prognostic impact of the IPSS-R and CD7 expression on myeloblasts in Japanese patients with MDS, The 75th Annual Meeting of the Japanese Society of Hematology, Hokkaido, Oct. 11, 2013.
  - 4) Hashii Y, Hosen N, Miyamura T, Nishida S, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Ozono K, Sugiyama H: WT1 based immunotherapy after stem cell transplantation for pediatric hematological malignancy: Phase II clinical study, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013
  - 5) Oji Y, Tatsumi N, Fukuda M, Nakatsuka S, Fujiki F, Nakajima H, Hasegawa K, Nezu R, Mori E, Nishida S, Hosen N, Tsuboi A, Oka Y,

- Sugiyama H: Oncogenic function of eEF2 in cancers and in vivo humoral and in vitro CTL responses against eEF2 protein, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.
- 6) 藤木文博、林兪宏、勝原晶子、岡芳弘、坪井昭博、青山奈央、谷井里江、中島博子、森本創世子、保仙直毅、西田純幸、尾路祐介、熊ノ郷淳、杉山 治夫：HLA class II拘束性WT1由来ヘルパーペプチド特異的TCRを導入されたCD4<sup>+</sup>T細胞はヘルパー活性と細胞傷害活性を有する, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.
- 7) Hosen N, Maeda T, Fukushima K, Morimoto S, Nakata J, Nakae Y, Nishida S, Tsuboi A, Kondo T, Kadowaki N, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Kanakura Y, Sugiyama H: Clinical trial of WT1 peptide vaccination post allo HSCT in patients with high risk for relapse, the 5th Society of Immunotherapy for Hematological Malignancies, Nagoya, Aug. 24, 2013.
- 8) Nakae Y, Hosen N, Nakata J, Maeda T, Fukushima K, Morimoto S, Takashima S, Nakajima H, Fujiki F, Tatum N, Nishida S, Tsuboi A, Kondo T, Hino M, Oji Y, Oka Y, Kumanogoh A, Kanakura Y, Sugiyama H: Wilms Tumor 1 (WT1) Peptide Vaccine as an Enhancer of Graft Versus Leukemia Effects, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)
- 9) Fujiki F, Lin Y, Katsuhara A, Oka Y, Tsuboi A, Aoyama N, Tani S, Nakajima H, Tatsumi N, Morimoto S, Hosen N, Nishida S, Oji Y, Kumanogoh A, Sugiyama H: HLA class II-restricted WT1-specific TCR-transduced CD4<sup>+</sup> T cell Display a Helper Activity for WT1-specific CTL Induction and a Cytotoxicity Against Leukemia Cells, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)
- 10) Nakata J, Hosen N, Nakano K, Nishida S, Tsuboi A, Oji Y, Oka Y, Sugiyama H: NK cells Have Potential to Eradicate Leukemia cells in vivo in the Absence of Adaptive Immunity in the MLL-ENL Model, The 4th JSH International Symposium 2013, Ehime, 2013年5月24日 (国際学会)

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

## 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保健学研究院 放射線腫瘍学 教授

### 研究要旨

頭頸部癌に対する強度変調回転照射 VMAT の MU 値および治療時間を IMRT と比較した。VMAT は IMRT に比し MU 値低減と著明な治療時間短縮が得られた。上咽頭癌 17 例に対する VMAT では、上咽頭癌 VMAT では良好な局所制御・生存率を得つつ、口腔乾燥を低率に抑えることができた。肝細胞癌に対する定位放射線治療は比較的安全に高い局所制御が得られ、手術や RFA 困難な患者に対する一つの治療オプションとなりうる可能性が示唆された。

### A. 研究目的

1. 強度変調回転照射 (Volumetric Modulated Arc Therapy: VMAT) は強度変調放射線治療 (Intensity modulated radiotherapy: IMRT) の進化形であり、IMRT と同様に線量分布の自由度が高く、標的への根治線量を保持しつつ正常臓器への線量低減が可能である。さらに、VMAT では IMRT に比しガントリを回転させつつ効率のよい短時間での治療が可能である。今回は①頭頸部癌に対する VMAT の治療短縮効果および②上咽頭癌における VMAT の治療成績について検討した。

2. 肝細胞癌（以下、HCC）に対する定位放射線治療はまだ一般的ではないが、当院では手術もしくはラジオ波焼却（RFA）が施行困難であった場合に、積極的に施行している。本研究では、その治療成績及び課題について検討した。

### B. 研究方法

1. 既治療頭頸部癌 IMRT 治療例 6 症例について VMAT での治療計画を行い、MU 値、治療時間について検討した。次に 2010 年 10 月から 2013 年 2 月までに VMAT を施行した上咽頭がん患者 17 例について治療効果および有害事象を解析した。放射線治療は全例で VMAT 2 arc で行い、13 例で SIB 法を、3 例で two step 法を用いた。処方線量は PTV の D95 を 70Gy/35 分割とした。

2. 2002 年 3 月から 2012 年 12 月まで広島大学病院で定位放射線治療を施行した HCC 83 例 99 病変を対象とした。6・10MV X 線を用いた non-coplanar 8 門照射にて、アイソセンタ処方でも梢型には 48Gy/4 回、中枢型（主に肝門部）には 60Gy/8 回の定位放射線治療を行った。77 例で TACE を併用し、以下の項目を検討した。

1) PTV (planning target volume) の 95% を照

### 射する線量 (D95)

- 2) 全生存率、無病生存率、局所制御率
- 3) 有害事象
- 4) 全生存率と局所制御率に影響する因子の解析

（倫理面への配慮）

### C. 研究結果

1. まず VMAT では、従来の IMRT に比し、低 MU 値での治療が可能で、照射時間は IMRT の約 20 分から約 5 分と著明な短縮が得られた。次に観察期間中央値 18 ヶ月にて、2 年全生存/無再発生存/局所領域制御率は 82%/54%/92%であった。再発は局所領域/遠隔を 1/4 例に認めた。≥G3 急性期有害事象は粘膜炎/嚥下困難/皮膚炎を 9/8/6 例に認めた。晩期有害事象として G4 の喉頭浮腫を 1 例に認めた。G2 の口内乾燥は CRT 終了時及び最終観察日でそれぞれ 94%、13%に認めたが G3 以上の口内乾燥は認めなかった。

2. 観察期間中央値は 34 カ月 (4-96 ヶ月)、年齢中央値は 78 歳 (46-90 歳) であった。まず D95 中央値は 45.7 Gy (range, 37.4-59.3 Gy) であった。次に 2 年全生存率、局所無再発生存率、局所制御率はそれぞれ 72.9% (95% CI; 62.2-83.5%)、37.6%@2y (95% CI; 26.4-48.8%)、98.9% (95% CI; 96.7-100%) であった。生存期間中央値は 32 カ月であった。また CTCAE ver4.0 にて評価し、6-12 カ月における Grade 3 以上の有害事象の割合は 21/83 例 (25.3%) であった。うち 1 例に Grade 4 の血小板減少を認めた。消化管潰瘍及び穿孔は認めなかった。Child-Pugh 分類 Class B で有意に Grade 3 以上の有害事象を認めた (p < 0.001)。その後多変量解析 (log-rank test による) を行い、Child-Pugh 分類 Class A で有意に全

生存率が良好であった (p= 0.0046)。

#### D. 考察

VMAT では IMRT に比し MU 値が低く、これは回転照射を行うことで効率のよい照射を達成しているものと考えられる。結果、照射時間の著明な短縮が得られ、患者の苦痛の軽減、患者スループットの向上、二次発癌の低減などの面で有用と考えた。上咽頭がんの治療成績では、良好な局所制御と生存率が確認され、同時に従来の 3 次元治療で大きな問題であった晩期有害事象である口腔乾燥 (G2 以上) の発症を著明に低減できた。

肝細胞癌に対する当院単施設の成績において、2 年局所制御率は 98.7% と極めて良好であり、手術もしくは RFA が施行困難であった場合における局所治療の選択肢としての可能性が示唆された。また、Grade 3 以上の有害事象は 25.3% であったが、諸家の報告とほぼ同様である上、手術や RFA などの治療を既に施行された後の再発例がほとんどであった点を考慮すると、比較的 safely に施行可能であった。ただし、Child-Pugh 分類 Class B で有意に Grade 3 以上の有害事象を認めたことから、この群では注意が必要である。

#### E. 結論

頭頸部癌における VMAT は IMRT に比し MU 値低減と著明な治療時間短縮が得られた。上咽頭癌 VMAT では良好な局所制御・生存率を得つつ、口腔乾燥を低率に抑えることができた。

HCC に対する定位放射線治療は比較的 safely に高い局所制御が得られ、手術、RFA 困難な患者に対する一つの治療オプションとなりうる可能性が示唆された。今後は「初発孤立性肝細胞癌に対する体幹部定位放射線治療の有効性に関する多施設共同試験」において前向きに検討する予定である。

#### F. 研究発表

##### 1. 論文発表

- 1) Nagata Y.: Stereotactic body radiotherapy (SBRT) for early stage lung cancer. *Cancer Research and Treatment*. 2013; 45(3):155-161.
- 2) Kimura T., Takahashi S., Kenjo M., Nishibuchi I., Takahashi I., Takeuchi Y., Doi Y., Kaneyasu Y., Murakami Y., Honda Y., Aikata H., Chayama K., Nagata Y.: Dynamic computed tomography appearance of tumor response after stereotactic body radiation therapy for hepatocellular carcinoma: How should we evaluate treatment effects? *Hepatol Res*. 2013; 43: 717-27.
- 3) Honda Y., Kimura T., Aikata H., Kobayashi T.,

Fukuhara T., Masaki K., Nakahara T., Naeshiro N., Ono A., Miyaki D., Nagaoki Y., Kawaoka T., Takaki S., Hiramatsu A., Ishikawa M., Kakizawa H., Kenjo M., Takahashi S., Awai K., Nagata Y., Chayama K.: Stereotactic body radiation therapy combined with transcatheter arterial chemoembolization for small hepatocellular carcinoma. *J Gastroenterol Hepatol*. 2013; 28:530-6.

- 4) Takahashi S, Kimura T, Kenjo M, Nishibuchi I, Takahashi I, Takeuchi Y, Doi Y, Kaneyasu Y, Murakami Y, Honda Y, Aikata H, Chayama K, Nagata Y: Case reports of portal vein thrombosis and bile duct stenosis after stereotactic body radiation therapy for hepatocellular carcinoma. *Hepatol Res*. in press, 2013.
- 5) 永田 靖: 【特集 高精度放射線治療のピットフォール】はじめに、臨床放射線, 58(5):649-650, 2013.5.
- 6) 高橋一平, 木村智樹, 廣川淳一, 土井敏子, 権丈雅浩, 兼安祐子, 村上祐司, 小澤修一, 永田 靖: 【特集: 広がる放射線治療】I 期非小細胞癌に対する定位放射線治療, 映像情報 *Medic al*. 45(11):856-860.2013.10
- 7) 高橋一平, 柏戸宏造, 権丈雅浩, 北台靖彦, 田利 晶, 麻奥英毅, 兼安祐子, 木村智樹, 村上祐司, 永田 靖: 胃 MALT リンパ腫に対する放射線治療成績, 臨床放射線, 58(12):1755-1760, 2013.11.
- 8) 今野伸樹, 木村智樹, 勝田 剛, 土井敏子, 岡部智行, 権丈雅浩, 兼安祐子, 村上祐司, 小澤修一, 永田 靖: 早期肺がんに対する体幹部放射線照射の進歩と展望. *腫瘍内科*, 13(1): 59-65, 2014.1.

##### 2. 学会発表

- 1) Nagata Y., Kimura T, Murakami Y, Kenjo M, Kaneyasu Y, Doi Y, Takahashi I, Ozawa S: Survey of stereotactic body radiation therapy in Japan. *Proceedings of the American Society for Radiation Oncology 55th annual meeting (ASTRO)*. 2013.9.22-24, Atlanta, USA.
- 2) Murakami Y, Takahashi I, Hirokawa J, Doi Y, Kaneyasu Y, Kenjo M, Kimura T, Ozawa S, Nagata Y: Twenty Years Treatment Results Of Radiation Therapy For T1N0M0 Esophageal Cancer. *Proceedings of the American Society for Radiation Oncology 55th annual meeting (ASTRO)*. 2013.9.22-24, Atlanta, USA.
- 3) Doi Y, Kimura T, Nakashima T, Takahashi S,



Takahashi I, Hirokawa J, Kenjo M, Ozawa S, Murakami Y, Nagata Y: Functional Image-Guided Radiotherapy Planning in Volumetric Modulated Arc Therapy for Malignant Pleural Mesothelioma Patients with Pulmonary Emphysema. Proceedings of the American Society for Radiation Oncology 55th annual meeting(ASTRO). 2013.9.22-24, Atlanta, USA.

- 4) Nagata Y: Stereotactic body radiotherapy for early stage lung cancer. The 3rd International Medical Symposium of Dong-A University. 2014.2.7-8, Busan, Korea.

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

死亡率ゼロを目指す膵頭十二指腸切除術と術後管理法の開発に関する研究  
－膵液瘻発生率ゼロを目指した安全な膵頭十二指腸切除法の開発－

研究分担者 高橋 進一郎 国立がん研究センター東病院 肝胆膵外科 病棟医長

研究要旨

soft pancreas における高率な膵液瘻は膵頭十二指腸切除の主要な問題である。膵切離法に関する前向き研究の結果、現在頻用されている超音波凝固切開装置と比較しメスによる切離において膵液瘻が有意に少なく膵液瘻減少に有効な可能性が示唆された。Soft pancreas の診断、術前膵液瘻リスクの定量化に CT perfusion image による血液通過時間（MTT）の測定が有用な可能性がある。

A. 研究目的

膵頭十二指腸切除は膵頭部、乳頭部領域癌に対し唯一根治が期待できる治療であるが術後合併症発生率 30-50%、死亡率 3-5%と手術に伴うリスクが高い。膵頭十二指腸切除後の重篤な合併症、術後死亡の多くは膵液瘻に起因するため膵液漏減少は膵頭十二指腸切除の安全性向上に不可欠である。本研究は手術手技・周術期管理法の改善により膵頭十二指腸切除患者の膵液瘻防止、死亡率低下、術後残院期間の短縮を計ることを目的とした。

B. 研究方法

1. Soft pancreas 症例における適切な膵切離法の検討：膵液瘻発生率は有意に改善しているが soft pancreas 症例の膵液瘻は依然として高率である。膵切離面末梢分枝膵管からの膵液漏出は膵液瘻の主要な原因の一つであり膵切離法が膵液瘻発生に関与している可能性がある。膵切離以外の術式、周術期管理法を定型化し前向きに症例集積を開始した 2010 年 1 月より 2013 年 6 月の期間に施行された soft pancreas に対する膵頭十二指腸切除 93 例を対象に、超音波凝固切開装置切離(LCS)とメスによる膵切離による膵液瘻発生率を比較した。LCS 切離かメス切離かの選択は術者判断となり、術者により両者の割合は異なるが参加した 5 名の外科医はどちらの切離法も施行した。

2. CT perfusion image を用いた膵線維化診断：膵臓非腫瘍部の硬さ（soft pancreas）は膵液瘻発生の強い予測因子であることは本研究や過去の報告で明らかになっている。しかし膵臓の硬さの定量化に関する方法論は定まっていない。一方膵の硬

さは膵臓の線維化と強い相関関係を持っていることから、膵の線維化を定量することにより硬さの定量化が可能と考えられる。そこで CT perfusion image を用いて膵内の血流動態を調べることにより膵線維化の定量化が可能か前向き研究を行った。膵頭十二指腸切除予定 20 例について 320 列 MDCT を用いた CT perfusion image により動脈血流量（arterial flow ; AF）、血液通過時間（mean transit time ; MTT）を測定した。膵断端の顕微鏡学的な線維化割合（fibrosis ratio）、腺組織割合（gland ratio）、脂肪織割合（fat ratio）、微小血管密度（micro vessel density）を画像解析装置により算出し AF、MTT との相関を検討した。また AF、MTT と術後膵液瘻の相関を検討した。

（倫理面への配慮）

ヘルシンキ宣言及び臨床研究に関する倫理審査に従って本研究を実施する。  
プライバシーの保護と患者識別：本試験研究者は個人情報保護のため最大限の努力を払う。

C. 研究結果

1. メス群（27 例）、LCS 群（66 例）の背景、膵液瘻発生割合、合併症発生割合を比較検討した。メス群、LCS 群で原疾患、BMI、手術時間、出血量、主膵管径、ASA PS、減黄処置法、門切の有無等、背景に有意差を認めなかった。メス群、LCS 群の膵液瘻（ISGPF B 以上）発生割合は 4%、42%（ $p<0.01$ ）とメス群で有意に膵液瘻発生割合が低かった。また grade III 以上の合併症割合もメス群で有意に低かった（15% vs. 45%,  $p<0.01$ ）。LCS 膵切離は Soft pancreas における膵液瘻予測因子であった。尚、

統計学的有意差は無いが、術後 1 日目のドレーン排液 AMY 平均値はメス切離群の方が LCS 切離群より高値であったが (34,196 vs. 25,943 U/L)、術後 3 日目 (1,912 vs. 2,598 U/L)、5 日目 (1,711 vs. 2,402 U/L) はメス切離群で低値であった。

2. 動脈血流量 (AF) は腺組織割合 (grand ratio) ( $r=0.48$ ) と正の、線維化割合 (fibrosis ratio) ( $r=-0.68$ )、微小血管密度 (micro vessel density) ( $r=-0.57$ ) と負の相関を示し、血液通過時間 (MTT) は grand ratio ( $r=-0.46$ ) と負の、fibrosis ratio ( $r=0.72$ )、vessel density ( $r=0.59$ ) と正の相関を示した。一方脂肪組織割合 (fat ratio) は AF ( $r=-0.29$ )、MTT ( $r=0.25$ ) と有意な相関を示さなかった。膵液瘻症例と膵液瘻を起さなかった症例で AF、MTT を比較すると、膵液瘻症例において AF は有意に高値 (107.0 vs. 37.1 ml/min/dl)、MTT は有意に低値 (12.4 vs. 43.0 s) であった。以上の結果より CT perfusion image による膵線維化 (膵臓非腫瘍部の硬さ) の定量化は一定程度可能と考えられる。

#### D. 考察

今までの本研究による包括的膵液漏減少対策により膵液瘻発生割合は大幅に減少をした。しかし内訳をみると、hard pancreas 症例ではほぼ膵液瘻発生割合がゼロになった一方、soft pancreas 症例では減少は認めるが依然高頻度であり膵液漏防止の追加対策が必要である。

膵切離面末梢分枝膵管からの膵液漏出は膵液瘻の主要な原因の一つと考えられている。主膵管と消化管が漏れなく吻合されていたとしても、末梢分枝膵管から漏出した膵液に感染が加わることでより吻合破綻を伴う重篤な膵液瘻へと増悪する可能性がある。近年、膵切離に超音波凝固切開装置 (LCS) を用いて末梢分枝膵管を凝固密封し同部からの膵液瘻を防止する試みが多くの施設で行われているが、その効果は明らかにされていない。そこで soft pancreas に対して膵頭十二指腸切除を施行した 93 症例を解析し、LCS を用いて膵切離した症例とメスにより膵切離した症例の膵液瘻発生割合を比較した。その結果、LCS による膵切離症例ではメスによる膵切離症例よりも有意に膵液瘻発生割合が高く期待される効果と反することが判明した。ドレーン排液 AMY 値の推移より推測すると、術翌日は LCS 群で膵液漏出が若干少なく LCS の効果が若干認められるが 3 日目以降メス群で膵液の漏出が急速に収まる一方 LCS 群では膵液漏出が少量遷延し、それが膵液瘻 B 以上に進展すると考えられる。LCS 切離は末梢分枝膵管に対する一時的

な凝固密封効果はあるかもしれないが、おそらく凝固部位は組織壊死し創傷治癒機転が働かず膵切離面と消化管壁との密着吻合が完全でない可能性が高い。一方メス切離は組織損傷が少ないため 3-5 日目での創傷治癒機転が十分に働き強固な密着吻合が成され結果的に末梢分枝膵管からの漏出が止まるのではないかと考えられる。以上より Soft pancreas においては LCS 切離に対してメス切離に優位性があると考えられるが、あくまで単施設の non-RCT 研究であり、今後多施設による検証を要すると考えている。

膵液瘻リスクの定量化に関する方法論は定まっておらず、施設間、研究間での比較可能性が担保されないことから、膵液瘻臨床研究の足かせとなっている。最も強いリスク因子は膵の硬さ (soft pancreas or hard pancreas) であるが、硬さの診断法・定量化も現在まで標準的なものは全く存在しない。膵の硬さは膵臓の線維化と強い相関関係を持っていることから、膵の線維化を定量することにより硬さの定量化が可能と考えられる。Perfusion CT は臓器の単位体積・単位時間あたりに流れる血液量を画像化が可能である。膵の血液通過時間 (MTT) により膵の線維化を定量化できる可能性がある。MTT、AF と膵液瘻発生割合、組織学的所見の相関を検討したところ、MTT の延長は術後膵液瘻(-)と有意に相関しており、組織学的には膵の線維化と有意な相関を示した。一方 AF の増加はその逆であり、術後膵液瘻(-)、組織学的線維化と逆相関していた。また、術者による硬さの術中診断 (hard) と MTT の延長は強い相関を示しており、以上の結果から MTT 値による膵の線維化・硬さの定量化が可能であることが示された。問題点としては Perfusion CT が可能な 320 列 MDCT を保有する施設が少ない事、腫瘍の診断用に撮像する CT とは別個に撮像が必要なこと、今回の 20 例の検討では soft と hard の定義づけまでは困難であった事、があげられる。今後は、膵液瘻低減を目指した多施設臨床試験が行われていくべきと考えているが、その際に付随的研究として MTT の意義について検証し MTT による soft pancreas の定義づけを目指していきたい。一方、膵の脂肪化が膵液瘻の新たなリスク因子として注目されているが、本検討では組織学的脂肪割合は膵液漏や MTT と一定の相関を示さずリスク因子として認められなかった。しかし臨床的に脆い膵臓があることは事実でありそれらの定義づけは今後の課題であると考えられる。

## E. 結論

Soft pancreas における膵液瘻減少を目指し適切な膵切離法について検討した。メスによる膵切離は自然な創傷治癒機を妨げず膵液瘻を減少させる可能性がある。Perfusion CT における MTT の延長は、硬さの術中診断 (hard)、組織学的線維化、術後膵液漏(-)、と有意な相関を示し、MTT 値による膵の線維化・硬さの定量化が可能であることが示された。今後膵臓外科臨床、膵液漏研究への応用が期待される。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Satoi S, Yamaue H, Kato K, Takahashi S, Hirono S, Takeda S, Eguchi H, Sho M, Wada K, Shinchi H, Kwon AH, Hirano S, Kinoshita T, Nakao A, Nagano H, Nakajima Y, Sano K, Miyazaki M, Takada T. Role of adjuvant surgery for patients with initially unresectable pancreatic cancer with a long-term favorable response to non-surgical anti-cancer treatments: results of a project study for pancreatic surgery by the Japanese Society of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery. J Hepatobiliary Pancreat Sci., 2013, Epub ahead of print.
- 2) Sugimoto M, Gotohda N, Kato Y, Takahashi S, Kinoshita T, Shibasaki H, Nomura S, Konishi M, Kaneko H. Risk factor analysis and prevention of postoperative pancreatic fistula after distal pancreatectomy with stapler use. J Hepatobiliary Pancreat Sci., 2013, 20(5): 538-544.
- 3) Sugimoto M, Takahashi S, Gotohda N, Kato Y, Kinoshita T, Shibasaki H, Konishi M. Schematic pancreatic configuration: a risk assessment for postoperative pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. J Gastrointest Surg., 2013, 17(10): 1744-1751.
- 4) Kobayashi S, Gotohda N, Kato Y, Takahashi S, Konishi M, Kinoshita T. Infection control for prevention of pancreatic fistula after pancreaticoduodenectomy. Hepatogastroenterology. 2013, 60(124): 876-82.
- 5) 高橋進一郎, 小西 大, 池田公史, 大野 泉, 小林達伺. Borderline resectable の膵癌とは何か詳しく教えてください(Q&A). 膵・胆道癌 FRONTIER 2013, 3巻1号: 34-6.

### 2. 学会発表

- 1) 高橋進一郎, 小西 大, 木下敬弘, 後藤田直人, 加藤祐一郎, 杉本元一. (VF)メスと超音波凝固

切開装置による膵切離の比較検討: soft pancreas におけるメス切離の優位性. 第113回日本外科学会定期学術集会 2013年4月11日-13日, 福岡サンパレス.

- 2) 杉本元一, 高橋進一郎, 加藤祐一郎, 後藤田直人, 木下敬弘, 小西 大. (PS)膵頭十二指腸切除術後の膵瘻対策とドレーン早期抜去の試み. 第113回日本外科学会定期学術集会 2013年4月11日-13日, マリンメッセ福岡.
- 3) 高橋進一郎, 小西 大, 後藤田直人, 加藤祐一郎, 木下敬弘, 芝崎英仁, 杉本元一. (VS)Soft pancreas膵空腸吻合におけるメス膵切離の優位性.第75回日本臨床外科学会総会 2013年11月21日-23日, 名古屋国際会議場/愛知.
- 4) 高橋進一郎, 小西 大, 後藤田直人, 加藤祐一郎, 木下敬弘, 芝崎英仁, 杉本元一. 全員討論会「膵切除術後の感染防止対策」 6.ドレーン培養の詳細と膵液瘻の相関. 第40回日本膵切研究会 2013年8月30日-31日, サポートホール高松/香川.

## 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

## Stage II/III 食道がんに対する新しい化学放射線療法の開発に関する研究

－臨床病期II/III（T4を除く）食道がんに対するS-1+CDDPを同時併用する  
化学放射線療法の第I/II相試験に関する研究－

研究分担者 大津 敦 国立がん研究センター 早期・探索臨床研究センター長

### 研究要旨

食道がんに対するS-1の保険適用承認申請を前提としたS-1+シスプラチン+放射線照射同時併用(CRT)の第I/II相試験を医師主導治験として実施した。対象例は臨床病期II-IIIとし、第II相試験部分のprimary endpointはCR率と設定。2007年5月から登録開始。第I相試験でレベル1を推奨用量と決定し、2009年3月から第II相試験の登録を開始したが、症例集積が伸び悩んだため、中間解析をクリアした44例で登録を終了した。2013年に実施した独立効果判定委員会でのprimary endpoint CR率は60%と従来の5-FU+シスプラチン(FP)によるCRTを上回ることができなかったが、3年生存率66%、無増悪生存率49%と従来のCRTを上回る良好な成績が得られた。

### A. 研究目的

本研究は、食道がんに対するS-1の保険適用承認申請を前提とした医師主導治験を、S-1+シスプラチン+放射線照射同時併用の第I/II相試験として計画し実施することを目的とした。対象例は臨床病期II-IIIとし、第II相試験部分のprimary endpointはCR率と設定した。

### B. 研究方法

対象は臨床病期II-IIIの胸部食道がん初回治療例で、75歳以下PS0-1、臓器機能保持症例で書面でのインフォームドコンセントが得られた症例。治療法は、S-1: 40-80mg/m<sup>2</sup>を2週間内服、2週間休薬、シスプラチンをday 1に75 mg/m<sup>2</sup>投与を4週毎に繰り返し、放射線照射は1.8Gyを計28回総量50.4Gy照射とした。第I相試験部分のprimary endpointは各投与レベルでのDLT発生率。第II相部分のPrimary endpointはCR率(独立した効果判定委員会で判定)、secondary endpointは全生存期間、無増悪生存期間、有害事象の頻度とした。第II相試験部分の目標症例数75例。参加施設は医師主導治験に対応可能な4施設とした。

本試験デザインをもとに医薬品医療機器総合機構相談を実施、各施設の倫理審査委員会承認後、治験届を提出し、2007年5月より登録を開始した。

#### (倫理面への配慮)

本試験は医師主導治験として、GCPに準拠して行われ、各施設の倫理審査委員会での承認を取得している。患者へのインフォームドコンセントは書面での同意を必須としている。

### C. 研究結果

第I相試験部分では計12例登録。レベル1を推奨容量に決定し第II相試験へと移行し、2009年3月から登録を開始。しかし、他の臨床試験結果から本ステージでの治療が術前化学療法が主流となり、CRT自体の症例数が減少したことで集積が遅れ、中間解析の症例数をクリアした合計44例の登録で2011年9月に関係者で協議の上、登録を終了することとした。

本試験全体では安全性に大きな問題はなく治療関連死亡も発生していない。以前のFPによるCRT(JCOG9906)で5%にみられた晩期毒性による死亡も現時点まで発生していない。2013年に独立効果判定委員会で判定したprimary endpoint CR率は60%とヒストリカルコントロールのJCOG9906とほぼ同様のCR率であり、本試験での期待CR率を達成することができなかった。しかし、観察期間中央値3.5年での登録44例全体での3年生存率66%、無増悪生存率49%と従来のJCOG9906での45%、33%を大きく上回る良好な成績が得られている。現在、CRT後のサルベージ治療などに関するデータを解析中である。

### D. 考察

本試験では、症例集積が伸び悩み、中間解析症例数をクリアした44例で最終的に登録を打ち切っている。集積不良は、試験開始直後に他の試験結果で本ステージのCRT希望症例自体が減少したことが大きな要因であった。

本試験でのprimary endpointである独立効果判定委員によるCR率は60%と、90%信頼区間下限値

(44%)が閾値(57%)を上回ることができず、本試験の最終結果は negative と判定された。すなわち、S-1を組み入れた本治療レジメンが従来の FP による CRT を超える可能性は極めて低く、次のステージの試験へ進むことは否定された。一方で、生存成績は従来の JCOG9906 での成績を上回る極めて良好な結果が得られている。CR 率はほぼ変わらないにもかかわらず生存成績が良好であった要因としては、本治療レジメンで適用した多門照射法への変更や照射量の減量、画像診断の発達による対象例の差異、サルベージ治療の発達など様々な要因が考えられるため、本治療レジメンを推奨することにはつながらない。しかし、今回の生存成績は、現在の本ステージでの標準治療である術前化学療法 (FP) + 外科手術の成績とほぼ同等であり、CRT 自体の成績は治療オプションとして十分なデータと考えられる。

#### E. 結論

食道がんに対する TS-1 の保険適用承認申請を前提とした TS-1+シスプラチン+放射線照射同時併用の第 I/II 相試験を医師主導治験として実施した。他の臨床試験結果での標準治療の変化から症例集積が遅れ、中間解析の症例数を超えた 44 例の登録時点で本試験への登録を打ち切りとした。最終解析では、生存成績は良好であったが、primary endpoint の CR 率は期待値に達せず、次のステージの試験への移行は断念した。

#### F. 研究発表

##### 1.論文発表

- 1) Takashima A, Boku N, Kato K, Nakamura K, Mizusawa J, Fukuda H, Shirao K, Shimada Y, Ohtsu A. Survival prolongation after treatment failure of first-line chemotherapy in patients with advanced gastric cancer: combined analysis of the Japan Clinical Oncology Group Trials JCOG9205 and JCOG9912. *Gastric Cancer*. 2013. [Epub ahead of print]
- 2) Ohtsu A, Ajani JA, Bai YX, Bang YJ, Chung HC, Pan HM, Sahmoud T, Shen L, Yeh KH, Chin K, Muro K, Kim YH, Ferry D, Tebbutt NC, Al-Batran SE, Smith H, Costantini C, Rizvi S, Lebwohl D, Van Cutsem E. Everolimus for Previously Treated Advanced Gastric Cancer: Results of the Randomized, Double-Blind, Phase III GRANITE-1 Study. *J Clin Oncol*. 2013, 31(31): 3935-43.
- 3) Yamada Y, Boku N, Nishina T, Yamaguchi K, Denda T, Tsuji A, Hamamoto Y, Konishi K, Tsuji Y,

Amagai K, Ohkawa S, Fujita Y, Nishisaki H, Kawai H, Takashima A, Mizusawa J, Nakamura K, Ohtsu A. Impact of excision repair cross-complementing gene 1 (ERCC1) on the outcomes of patients with advanced gastric cancer: correlative study in Japan Clinical Oncology Group Trial JCOG9912. *Ann Oncol*. 2013, 24(10):2560-5.

- 4) Kaneko K, Yano T, Minashi K, Kojima T, Ito M, Satake H, Yajima Y, Yoda Y, Ikematsu H, Oono Y, Hayashi R, Onozawa M, Ohtsu A. Treatment strategy for superficial pharyngeal squamous cell carcinoma synchronously combined with esophageal cancer. *Oncology*. 2013, 84(1):57-64.
- 5) Fuse N, Nagahisa-Oku E, Doi T, Sasaki T, Nomura S, Kojima T, Yano T, Tahara M, Yoshino T, Ohtsu A. Effect of RECIST revision on classification of target lesions and overall response in advanced gastric cancer patients. *Gastric Cancer*. 2013, 16(3):324-8.

#### G.知的所有権の出願・取得状況

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

## 頭頸部癌に対する革新的診断と治療技術の開発に関する研究に関する研究

研究分担者 矢野 友規 国立がん研究センター東病院 消化管内視鏡科 医長

### 研究要旨

頭頸部癌及び消化管早期癌の指摘診断をさらに向上させるため、アミノレブリン酸を用いた光線力学診断(PDD)の開発に取り組んでいる。今回、実地可能性を評価するために内視鏡切除標本を用いたPDDの臨床試験を行った。結果は、8例登録し癌と診断された7例中蛍光が確認でき陽性で診断できたのは2例のみであった。不満足な蛍光陽性率の原因として長時間の内視鏡治療によって photobleaching をおこし、蛍光物質が失活した可能性が考えられた。今後生体内の試験を計画中有る。

### A. 研究目的

光線力学診断 (photodynamic diagnosis : PDD) は、腫瘍に選択的に集積した光感受性物質 (photosensitizer: PS)に光を照射し、蛍光を発生させ癌を発見する方法である。アミノレブリン酸 (5-aminolevulinic acid : 5ALA) の代謝産物は400nm付近の青い光によって赤い蛍光を発する。5ALAを用いたPDDは、悪性脳腫瘍、膀胱癌、での有用性が確認され、最近本邦でも悪性神経膠腫の術中範囲診断薬として承認された。頭頸部癌または消化管癌に対する5ALA-PDDの有用性に関する報告があるものの、体内で使える診断機器はない。FUJIFILM社で開発されたレーザー搭載内視鏡システムによってPDDが可能か否か探索的に検討することを目的に研究を行った。

### B. 研究方法

内視鏡治療開始予定時間3時間前5ALA20mg/kg服用後に内視鏡切除を行う。切除標本に対してFUJIFILM社製410nmのレーザー搭載内視鏡システムを用いて、赤色蛍光を画像化しPDDを行い、病変部分の蛍光強度を、positive・negativeの2段階で評価する。Primary endpointは、蛍光強度と病理結果の一致割合、Secondary endpointは、有害事象、レーザーによる組織障害。

#### (倫理面への配慮)

研究は、当センター倫理審査委員会の承認を得たプロトコールを遵守して行った。患者本人に説明同意文書を用いて説明の後、同意を得て研究に登録し、試験治療を行った。補償金について医法研補償ガイドラインに準じて補償を行い、補償金については、臨床試験を対象とした「臨床研究責任

担保特約条項付帯生産物賠償責任保険」に加入した。

### C. 研究結果

各臓器2例ずつ全8例登録され、全例合併症なく内視鏡切除が施行された。頭頸部の1例を除いて全例が切除標本で癌と診断され、癌7例中positiveと評価されたのは2例、非癌と診断された1例はnegativeと評価され、一致率は3/8(37.5%)。組織学的にレーザーによる組織障害は1例も認めなかった。全身的な有害事象は、軽度の肝機能障害のみで日光過敏症は認めなかった。

### D. 考察

生体外で切除標本にレーザーを照射して蛍光を確認する研究は、蛍光陽性率が低く不満足な結果に終わった。その要因としては、①内視鏡切除術は1時間近い時間を要し、治療中に病変部に持続的な光の暴露されることによって photobleaching をおこし蛍光物質が失活される可能性、②病変部に5ALAが取り込まれていない可能性が考えられた。本システムではそもそも蛍光の画像化が困難であることも懸念されたが、別実験で蛍光物質自体の画像化が出来ることは確認できた。いずれの要因も生体内で real time に画像化してみなければ解決しないため、今後は生体内での試験を行う予定である。

### E. 結論

本システムを用いた頭頸部および消化管早期癌切除標本に対するPDDは十分な蛍光が得られなかった。5ALAによる有害事象やレーザーによる組織障害は認めず、生体内でPDDを確認する試験は可

能と判断できた。

## F. 研究発表

### 1. 論文発表

- 1) Kaneko K, Yano T, Minashi K, Kojima T, Ito M, Satake H, Yajima Y, Yoda Y, Ikematsu H, Oono Y, Hayashi R, Onozawa M, Ohtsu A. Treatment strategy for superficial pharyngeal squamous cell carcinoma synchronously combined with esophageal cancer. *Oncology*. 2013;84(1):57-64. Epub 2012/11/07.
- 2) Yano T, Yoda Y, Satake H, Kojima T, Yagishi ta A, Oono Y, Ikematsu H, Kaneko K. Radial incision and cutting method for refractory stricture after nonsurgical treatment of esophageal cancer. *Endoscopy*. 2013;45(4):316-9. Epub 2013/01/25.
- 3) 矢野友規, 小田柿智之, 森本浩之, 依田雄介, 大野康寛, 金子和弘. 【食道表在癌の診断と治療】 食道癌ESD up-to-date. *日本消化器病学会雑誌*. 2013;110(10):1731-7.

### 2. 学会発表

- 1) Takeda Y, Yano T, et al. The safety analysis of repeated endoscopic resection for metachronous multiple superficial head and neck squamous cell carcinoma. 21<sup>st</sup> UEG Week Berlin 2013.
- 2) Morimoto H, Yano T, et al. Clinical impact of surveillance and early intervention for head and neck squamous cell carcinoma in patients with esophageal squamous cell carcinoma. 21<sup>st</sup> UEG Week Berlin 2013.
- 3) Satake H, Yano T, et al. Clinical outcome after endoscopic resection for superficial pharyngeal squamous cell carcinoma invading the subepithelial layer. 21<sup>st</sup> UEG Week Berlin 2013.

## 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



#### IV. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Kodera Y, Fujitani K, Fukushima N, Ito S, Muro K, Ohashi N, Yoshikawa T, Kobayashi D, Tanaka C, Fujiwara M	Surgical resection of hepatic metastasis from gastric cancer: a review and new recommendation in the Japanese gastric cancer treatment guidelines.	Gastric Cancer			
Kobayashi Y, Fukui T, Ito S, Shitara K, Hatooka S, Mitsudomi T	Pulmonary metastasectomy for gastric cancer: a 13-year single-institution experience.	Surg Today	43	1382-1389	2013
木下平, 木下敬弘, 斎浦明夫, 江崎実, 坂本裕彦, 伊藤誠二	【胃癌肝転移に対する治療戦略】 胃癌肝転移切除例に関する多施設共同研究.	癌の臨床	59	485-489	2013
伊藤友一, 三澤一成, 伊藤誠二	【切徐可能な Stage IV 胃癌に対する外科治療】 手術の適応と成績 腹腔洗浄細胞診陽性例 CY1 胃癌に対する集学的治療.	臨床外科	68	1446-1449	2013
伊藤誠二, 伊藤友一, 三澤一成, 清水泰博, 木下平	【胃がん治療の過去と未来】 胃がんの集学的治療の近未来.	癌の臨床	59	307-313	2013
T. Nishio, K. Matsushita, M. Sekine, S. Nakamura, S. Tanaka, A. Miyatake	Study of dose-volume delivery guided proton therapy	J. J. Radiol. Tech.	69(11)	1297-1305	2013
A. Miyatake, T. Nishio	Application of activity pencil beam algorithm using measured distribution data of positron emitter nuclei for therapeutic SOBP proton beam	Med. Phys.	40(9)	091709-1-9	2013
Y. Egashira, T. Nishio, K. Hotta, R. Kohno, M. Uesaka	Application of the pencil-beam redefinition algorithm in heterogeneous media for proton therapy	Phys. Med. Biol.	58(4)	1169-1184	2013
Horinouchi H, Sekine I, Sumi M, Noda K, Goto K, Mori K, Tamura T.	Long-term results of concurrent chemoradiotherapy using cisplatin and vinorelbine for stage III non-small-cell lung cancer	Cancer Sci.	104	93-7	2013
Murakami N, Kasamatsu T, Sumi M, Yoshimura R, Takahashi K, Inaba K, Morota M, Mayahara H, Ito Y, Itami J.	Radiation therapy for primary vaginal carcinoma.	J Radiat Res.	54	931-7	2013

Arita H, Narita Y, Miyakita Y, Ohno M, Sumi M, Shibui S.	Risk factors for early death after surgery in patients with brain metastases: reevaluation of the indications for and role of surgery.	J Neurooncol	116	145-52	2014
Shibamoto Y, Sumi M, Onodera S, Matsushita H, Sugie C, Tamaki Y, Onishi H, Abe E, Koizumi M, Miyawaki D, Kubota S, Ogo E, Nomiya T, Takemoto M, Harada H, Takahashi I, Ohmori Y, Ishibashi N, Tokumaru S, Suzuki K.	Primary CNS lymphoma treated with radiotherapy in Japan: a survey of patients treated in 2005-2009 and a comparison with those treated in 1985-2004.	Int J Clin Oncol.	In press		2014
Watanabe S, Asamura H, Miyaoka E, Okumura M, Yoshino I, Fujii Y, Nakanishi Y, Eguchi K, Mori M, Sawabata N, Yokoi K; for the Japanese Joint Committee of Lung Cancer Registry.	Results of T4 Surgical Cases in the Japanese Lung Cancer Registry Study: Should Mediastinal Fat Tissue Invasion Really be Included in the T4 Category?	Journal of Thoracic Oncology.	8(6)	759-765	2013
Goto T, Hongo K, Yako T, Hara Y, Okamaoto J, Toyoda K, Fujie M, Iseki H.	The Concept and Feasibility of EXPERT: Intelligent Armrest Using Robotics Technology.	Neurosurgery	72	39-42	2013
Suzuki T, Yoshimitsu K, Muragaki Y, Iseki H.	Intelligent Operating Theater; Technical Details for Information Broadcasting and Incident Detection System.	Journal of Medical and Biological Engineering	33(1)	69-78	2013
Muragaki Y, Akimoto J, Maruyama T, Iseki H, Ikuta S, Nitta M, Maebayashi K, Saito T, Okada Y, Kaneko S, Matsumura A, Kuroiwa T, Karasawa K, Nakazato Y, Kayama T.	Phase II clinical study on intraoperative photodynamic therapy with talaporfin sodium and semiconductor laser in patients with malignant brain tumors	J Neurosurg.	119(4)	845-52	2013
Hara T, Nakanishi H, Nakagawa T, Komiyama M, Kawahara T, Manabe T, Miyake M, Arai E, Kanai Y, Fujimoto H.	Ability of preoperative 3.0-Tesla magnetic resonance imaging to predict the absence of side-specific extracapsular extension of prostate cancer.	Int J Urol.	20(10)	993-9	2013

Sawada Y, Komori H, Tsunoda Y, Shimomura M, Takahashi M, Baba H, Ito M, Saito N, Kuwano H, Endo I, Nishimura Y, Nakatsura T.	Identification of HLA-A2 or HLA-A24-restricted CTLepitopes for potential HSP105-targeted immunotherapy in colorectal cancer.	Oncol. Rep.	31(3)	1051-8	2014
Suzuki S, Shibata K, Kikkawa F, Nakatsura T.	Significant Clinical Response of Progressive Recurrent Ovarian Clear Cell Carcinoma to Glypican-3-derived Peptide Vaccine Therapy: Two Case Reports.	Human Vaccines & Immunotherapeutics.	10(2)	1-8	2014
Tada Y, Yoshikawa T, Shimomura M, Sawada Y, Sakai M, Shirakawa H, Nobuoka D and Nakatsura T.	Analysis of cytotoxic T lymphocytes from a patient with hepatocellular carcinoma who showed a clinical response to vaccination with a glypican-3-derived peptide.	Int. J. Oncol.	43(4)	1019-26	2013
Sawada Y, Yoshikawa T, Fujii S, Mitsunaga S, Nobuoka D, Mizuno S, Takahashi M, Yamauchi C, Endo I, Nakatsura T.	Remarkable tumor lysis in a hepatocellular carcinoma patient immediately following glypican-3-derived peptide vaccination: An autopsy case.	Human Vaccines and Immunotherapeutics.	9(7)	1-6	2013
大藤和也, 中面哲也,	変貌するがん免疫療法 ペプチドカクテルワクチン療法	腫瘍内科	12(2)	122-9	2013
Tanosaki R, Kumazawa T, Yoshida A, Oguni S, Nakano A, Yamagata S, Takahashi N, Kurosawa S, Kim SW, Yamashita T, Mori S, Heike Y, Fukuda T, Hamaguchi Y, Tsuda H.	Novel and rapid enumeration method of peripheral blood stem cells using automated hematology analyzer.	Int J Lab Hematol.			2013
Hiramoto N, Kurosawa S, Tajima K, Okinaka K, Tada K, Kobayashi Y, Shinohara A, Inoue Y, Ueda R, Tanaka T, Kim SW, Yamashita T, Heike Y, Fukuda T.	Positive impact of chronic graft-versus-host disease on the outcome of patients with de novo myelodysplastic syndrome after allogeneic hematopoietic cell transplantation: a single-center analysis of 115 patients.	Eur J Haematol.			2013