

して、本年度は試験終了後 6 ヶ月の初回の追跡調査を 13 例に、2 回目の 12 ヶ月目の追跡調査を 8 例に、18 ヶ月目の 3 回目の追跡調査を 2 例に行い、予後を確認した（表 1）。2 年間の追跡期間の最終回にあたる 4 回目の追跡調査が可能であったのは、これまでに 1 例のみであった。

これまでの追跡調査の結果、本年度 4 例の原病死を確認し、試験開始から 11 例の原病死を確認している。また追跡調査により試験開始からこれまでに PR と評価された 1 例および SD と評価された 13 例中 8 例で、病勢の進行を確認している。

- 3) プロトコール治療が実施され、これまでに評価可能であった 31 症例における RECIST を用いた臨床効果については、完全奏功（CR）は認めず、部分奏功（PR）は 1 例、安定（SD）は 13 例、進行（PD）は 17 例であった（表 1）。

D. 考察

- 1) 治療期間終了後、最長 2 年の追跡調査の結果から、これまでに登録された症例において 11 例の原病死を確認しており、治療開始時よりの生存期間として 11.6 ヶ月、9.0 ヶ月、11.5 ヶ月、19.7 ヶ月、10.4 ヶ月、14.9 ヶ月、9.5 ヶ月、12.2 ヶ月、14.4 ヶ月、12.3 ヶ月、9.7 ヶ月であった。この中で、予後が不良（9.5 ヶ月、9.7 ヶ月）であった 2 症例は、試験途中で増悪となり中止とした

症例である。また治療終了時に PR および SD と評価された症例に対する追跡調査で確認されている無増悪生存期間は、3.0 ヶ月、6.2 ヶ月、4.9 ヶ月、6.8 ヶ月、5.2 ヶ月、6.8 ヶ月、8.3 ヶ月、7.8 ヶ月であった。進行・再発非小細胞肺癌の予後は大変厳しく、今後も原病悪化および原病死が確認される症例が増加することが予想されるため、プロトコールに規定した追跡調査を確実に実施していくことが重要である。これまでのところ全症例での追跡調査により予後の把握が出来ていることから、これらのデータを蓄積し全生存期間および無増悪生存期間を明らかにしていく方針である。

- 2) 腫瘍縮小効果に関しては、これまでに 1 例で PR を認め、1 例で一部の病変に縮小効果を認めたが、本年度登録し評価可能であった 15 症例においては、SD が 7 例、PD が 8 例であった。これまでの先行試験では PR を確認できた症例は認めておらず、腫瘍縮小効果が得られる症例は少ないことが予想されるが、今回 PR が得られた症例は 2 年間の追跡調査にて生存が確認され、長期予後が得られている。残りの症例においても画像評価を確実に実施し、生存期間と併せて腫瘍縮小効果の意義を検討していく予定である。
- 3) これまでに本治療プロトコールに登録された症例における臨床病期としては、局所進行期である IIIB 期が 6 例、遠隔

転移を有する IV 期が 21 例、完全切除後の術後再発が 6 例であった。組織型としては、腺癌 24 例、扁平上皮癌 7 例、大細胞癌などその他 2 例であった。腺癌の中では、Epidermal growth factor receptor (EGFR) 遺伝子変異を認めた症例は 4 例のみであり、症例全体の 12.1%、腺癌症例の 16.7%と少数に留まっていた。また EGFR-tyrosine kinase inhibitor (TKI) が登録前に未使用であり、臨床研究終了後に EGFR-TKI が使用可能であった症例は 1 例のみであった。癌の進行が極めて早い症例が多いことから、腫瘍倍加速度や前治療に対する反応など病勢に充分注意して慎重に登録の適否を行う必要があると思われる大細胞癌の症例はこれまで 1 例のみの登録であった。これまでに試験途中で中止となった 3 症例のうち 1 例はこの大細胞癌の症例で、腫瘍増大による疼痛のコントロールが必要となり試験を中止した。試験中止となった別の 1 例は、腫瘍が左肺門部に存在していたために容易に左主気管支以降の気道を圧排・閉塞する可能性があったことから、注意してプロトコール治療を行っていたところ、治療期間中に腫瘍増大を示唆する軽度の気道狭窄音が発生したために、画像的に腫瘍の増大を確認し、試験を中止した。早期に抗癌剤治療を行う目的に入院となったため有害事象報告を行ったが、試験との因果関係は認めず、自他覚症

状として重篤と判断される有害事象の発生は認めなかった。一般的に中枢気道の腫瘍性病変はその僅かな増大が症状を引き起こすことから、腫瘍の局在を登録前に十分に把握し、登録時に中枢気道狭窄が存在する症例では、注意深く症状経過観察を行いながらプロトコール治療を行う必要があると考えられた。

E. 結論

本臨床研究における組み入れ予定症例数の 94.3%まで症例登録を完了し、プロトコール治療を実施した。プロトコールに沿った追跡調査を全例で実施し、2 年を越える生存期間が確認された症例とともに、原病死が確認された症例では全生存期間が明らかとなってきた。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Uzawa, A., Kawaguchi, N., Kanai, T., Himuro, K., Oda, F., Yoshida, S., Yoshino, I. and Kuwabara, S. Two-year outcome of thymectomy in non-thymomatous late-onset myasthenia gravis. *J Neurol.* in press.
2. Tagawa, T., Suzuki, H., Nakajima, T., Iwata, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S. and Yoshino, I. Long-Term Outcomes of Surgery for Thymic Carcinoma: Experience of 25 Cases at a Single Institution. *Thorac Cardiovasc Surg.* in press.
3. Tagawa, T., Morimoto, J., Yoshida, S. and Yoshino, I. Sarcomatous components

- may predict prognosis in patients with pulmonary pleomorphic carcinoma. *Thorac Cardiovasc Surg.* in press.
4. Iwata, T., Yoshida, S., Nagato, K., Nakajima, T., Suzuki, H., Tagawa, T., Mizobuchi, T., Ota, S., Nakatani, Y. and Yoshino, I. Experience with perioperative pirfenidone for lung cancer surgery in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Surg Today.* in press.
 5. Tanaka, K., Suzuki, H., Nakajima, T., Tagawa, T., Iwata, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S. and Yoshino I. Recurrent pneumothorax associated with bronchial atresia: report of a case. *Surg Today.* in press.
 6. Yamada, Y., Yoshida, S., Iwata, T., Suzuki, H., Tagawa, T., Mizobuchi, T., Kawaguchi, N. and Yoshino I. Risk Factors for Developing Postthymectomy Myasthenia Gravis in Thymoma Patients. *Ann Thorac Surg.* 99(3):1013-9 (2015)
 7. Wada, H., Hirohashi, K., Nakajima, T., Anayama, T., Kato, T., Grindlay, A., McConnell, J., Yoshino, I. and Yasufuku, K. Assessment of the new thin convex probe endobronchial ultrasound bronchoscope and the dedicated aspiration needle: a preliminary study in the porcine lung. *J Bronchology Interv Pulmonol.* 22(1):20-7 (2015)
 8. Tanaka, A., Yoshino, I., Makino, S., Katsumata, N., Takahashi, K., Kuwano, H., Maehara, Y. and Nishiyama, M. Questionnaire-based survey on chemotherapy-induced anemia. *Int J Clin Oncol.* 19(3):411-20 (2014)
 9. Kameyama, K., Okumura, N., Miyaoka, E., Asamura, H., Yoshino, I., Tada, H., Fujii, Y., Nakanishi, Y., Eguchi, K., Mori, M., Kobayashi, H., Sawabata, N., Okumura, M., Yokoi, K.; Japanese Joint Committee of Lung Cancer Registry. Prognostic value of intraoperative pleural lavage cytology for non-small cell lung cancer: the influence of positive pleural lavage cytology results on T classification. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 148(6): 2659-64 (2014)
 10. Sun, Y., Furihata, T., Ishii, S., Nagai, M., Harada, M., Shimozato, O., Kamiyo, T., Motohashi, S., Yoshino, I., Kamiichi, A., Kobayashi, K. and Chiba, K. Unique expression features of cancer-type organic anion transporting polypeptide 1B3 mRNA expression in human colon and lung cancers. *Clin Transl Med.* 3:37 (2014)
 11. Suzuki, T., Tsushima, K., Sakairi, Y., Yoshida, S., Yoshino, I. and Tatsumi, K. Severe tracheobronchial stenosis and bronchiectasis complicating ulcerative colitis. *Respirol Case Rep.* 2(1):48-50 (2014)
 12. Mizobuchi, T., Wada, H., Sakairi, Y., Suzuki, H., Nakajima, T., Tagawa, T., Iwata, T., Motoori, K., Yoshida, S. and Yoshino, I. Spirometric and radiological evaluation of the remnant lung long after major pulmonary resection: can compensatory phenomena be recognized in clinical cases? *Surg Today* 44(9):1735-43 (2014)
 13. Inage, T., Nakajima, T., Yoshida, S. and Yoshino, I. Endobronchial elastography in the evaluation of esophageal invasion. *J Thorac Cardiovasc Surg.* 149(2):576-7 (2014)
 14. Hata, A., Iwata, T., Naito, A., Takahashi, Y., Takiguchi, Y., Nakatani, Y., Yoshida, S. and Yoshino, I. A case of acute respiratory failure due to bronchial rupture of an intrapulmonary cyst. *Emergency Medicine and Health Care* <http://dx.doi.org/10.7243/2052-6229-2-1> (2014)

15. Takei, H., Kondo, H., Miyaoka, E., Asamura, H., Yoshino, I., Date, H., Okumura, M., Tada, H., Fujii, Y., Nakanishi, Y., Eguchi, K., Dosaka-Akita, H., Kobayashi, H., Sawabata, N., Yokoi, K.; Japanese Joint Committee of Lung Cancer Registry. Surgery for small cell lung cancer: a retrospective analysis of 243 patients from Japanese Lung Cancer Registry in 2004. *J Thorac Oncol.* 9(8):1140-5 (2014)
 16. Sekine, Y., Sakairi, Y., Yoshino, M., Koh, E., Hata, A., Suzuki, H. and Yoshino, I. The impact of combined pulmonary fibrosis and chronic obstructive pulmonary disease on long-term survival after lung cancer surgery. *Thorac Cardiovasc Surg.* 62(4): 332-7 (2014)
 17. Yamamoto, T., Sakairi, Y., Nakajima, T., Suzuki, H., Tagawa, T., Iwata, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S., Nakatani, Y. and Yoshino I. Comparison between endobronchial ultrasound-guided transbronchial needle aspiration and 18F-fluorodeoxyglucose positron emission tomography in the diagnosis of postoperative nodal recurrence in patients with lung cancer. *Eur J Cardiothorac Surg.* 47(2):234-8 (2014)
 18. Sato, M., Okada, Y., Oto, T., Minami, M., Shiraishi, T., Nagayasu, T., Yoshino, I., Chida, M., Okumura, M., Date, H., Miyoshi, S., Kondo, T.; The Japanese Society of Lung and Heart-Lung Transplantation. Registry of the Japanese Society of Lung and Heart-Lung Transplantation: official Japanese lung transplantation report, 2014. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* 62(10):594-601 (2014)
 19. Nakajima, T., Yasufuku, K., Sakairi, Y., Shibuya, K., Yoshida, S. and Yoshino, I. Successful Treatment of Lung Cancer by Multimodal Endobronchial Interventions. *Respiration* 88(2):144-7 (2014)
 20. Okuda, K., Yano, M., Yoshino, I., Okumura, M., Higashiyama, M., Suzuki, K., Tsuchida, M., Usuda, J. and Tateyama, H. Thymoma patients with pleural dissemination: nationwide retrospective study of 136 cases in Japan. *Ann Thorac Surg.* 97(5): 1743-8 (2014)
 21. Sakairi, Y., Yoshino, I., Yoshida, S., Suzuki, H., Tagawa, T., Iwata, T. and Mizobuchi, T. Pattern of metastasis outside tumor-bearing segments in primary lung cancer: rationale for segmentectomy. *Ann Thorac Surg.* 97(5): 1694-700 (2014)
 22. Yun, T., Suzuki, H., Tagawa, T., Iwata, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S., Yamazaki, M. and Yoshino, I. Cavernous hemangioma of the posterior mediastinum with bony invasion. *Gen Thorac Cardiovasc Surg.* Published online: 18 Apr 2014
2. 学会発表
1. 鈴木秀海, 畑敦, 尹貴正, 山本高義, 田中教久, 鎌田稔子, 森本淳一, 中島崇裕, 長門芳, 岩田剛和, 吉田成利, 吉野一郎 皮膚筋炎に合併した間質性肺炎 (CADM-IP) し両側上葉温存生体肺移植後、管理に難渋した一例 第 31 回日本肺および心肺移植研究会 2015 年 1 月 31 日, 東京
 2. 吉野一郎 肺癌のリンパ節郭清における Evidence-based surgery と Rationale-based surgery 呼吸器外科 Expert Meeting 2014 年 12 月 12 日, 東京
 3. 吉野一郎 末梢小型肺がんの外科治療～動向と課題～ 千葉 COPD・肺がんセミナー 2014 年 11 月 27 日, 千葉
 4. 吉野一郎 III期非扁平上皮・非小細胞肺癌に対するベバシズマブ併用術前導入療法の第II相試験: TCOG1002 第 55 回日本肺癌学会学術集会 2014 年

- 11月15日, 京都
5. 吉野一郎 肺がん外科治療における機能温存の現状と課題 第8回鹿児島がん診療セミナー 2014年11月4日, 鹿児島
 6. 吉野一郎 肺再生・移植の臨床と研究 第12回福岡外科セミナー 2014年10月10日, 福岡
 7. 吉野一郎 縦隔腫瘍に対する外科療法の実際「全国胸腺上皮性腫瘍データベースにおけるⅢ期胸腺腫の手術成績」第67回日本胸部外科学会定期学術集会 2014年10月2日, 福岡
 8. 吉野一郎 間質性肺炎合併肺癌の外科治療 徳島呼吸器疾患談話会 2014年9月11日, 徳島
 9. 吉野一郎 肺癌外科治療における機能温存戦略とその課題 第5回大分肺がんセミナー 2014年9月5日, 大分
 10. 吉野一郎 肺癌に対する免疫療法の可能性 Oncology Seminar 2014年9月2日, 広島
 11. 吉野一郎 肺癌手術のリンパ節郭清における Evidence-based medicine と Rationale-based medicine 第47回日本胸部外科学会九州地方会総会 2014年8月7日, 沖縄
 12. 吉野一郎 肺がんと手術という選択 (公財)千葉市文化振興財団 2014年7月16日, 千葉
 13. Yoshino, I. Adequacy of video-assisted thoracic surgery thymectomy for oncological operation : comparison with the transsternal approach. ESTS2014 6/15-18/2014, Copenhagen-Denmark
 14. Iwata, T., Suzuki, H., Nakajima, T., Nagato, K., Yamada, Y., Tagawa, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S. and Yoshino I. Pleural factor and nodal metastasis in small-sized lung adenocarcinoma. ESTS2014 6/15-18/2014, Copenhagen-Denmark
 15. 吉野一郎 肺移植 - 困難病態との戦い- 第3回千葉心臓・肺移植セミナー 2014年6月6日, 千葉
 16. 吉野一郎 小型浸潤肺癌の縮小手術における考案 第6回呼吸器外先進フォーラム 2014年5月24日, 大阪
 17. Yun, T., Suzuki, H., Nakajima, T., Tagawa, T., Iwata, T., Mizobuchi, T., Yoshida, S., Nakatani, Y. and Yoshino, I. Surgical Treatment of Primary Chest Wall Tumor. ATS 2014 International Conference 5/16-21/2014, San Diego
 18. Mizobuchi, T., Yun, T., Suzuki, H., Inage, T., Kamata, T., Morimoto, J., Nakajima, T., Tagawa, T., Yoshida, S. and Yoshino, I. Surveillance Of Bacterial Airway Colonization During General Anesthesia Does Not Predict Postoperative Pneumonia In Lung Cancer Patients After Pulmonary Resections: Retrospective Analysis Of Risk Factors. ATS 2014 International Conference 5/16-21/2014, San Diego
 19. Nagato, K. and Yoshino, I. Invariant NKT cells generated by the TIL 13831 T cell receptor gene transfer with retroviral vectors allows efficient redirection of human antigen specificity. The 12th Annual Meeting of the Association for Cancer Immunotherapy 5/30/2014, Mainz Germany
 20. Wada, H., Hirohashi, K., Anayama, T., Nakajima, T., Kato, T., Chan, H., Qiu, J., Daly, M., Weersink, R., Jaffray, D., Jonathan, I., Waddell, T., Keshavjee, S., Yoshino, I. and Yasufuku, K. Ultra-minimally Invasive Sentinel Lymph Node Mapping Using a Combination of Transbronchial Injection of Indocyanine Green and Near-infrared Fluorescence Thoracoscope. AATS ANNUAL MEETING 2014 4/26-30/2014, Toronto Canada

G. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 臨床結果

症例	効果判定	観察・追跡期間	転帰
1	SD	11.6ヶ月	原病死
2	PD	9.0ヶ月	原病死
3	PR	26.5ヶ月	生存
4	SD	11.5ヶ月	原病死
5	SD	19.7ヶ月	原病死
6	SD	10.4ヶ月	原病死
7	PD	14.9ヶ月	原病死
8	PD	9.5ヶ月	原病死
9	PD	21.0ヶ月	生存
10	PD	12.2ヶ月	原病死
11	PD	14.4ヶ月	原病死
12	SD	19.8ヶ月	生存
13	SD	20.5ヶ月	生存
14	PD	20.0ヶ月	生存
15	PD	18.4ヶ月	生存
16	PD	12.3ヶ月	原病死
17	SD	14.3ヶ月	生存
18	PD	8.9ヶ月	生存
19	PD	10.0ヶ月	生存
20	SD	9.2ヶ月	生存
21	PD	9.7ヶ月	原病死
22	PD	9.3ヶ月	生存
23	PD	9.3ヶ月	生存
24	SD	8.7ヶ月	生存
25	SD	7.8ヶ月	生存
26	SD	6.0ヶ月	生存
27	SD	2.5ヶ月	生存
28	SD	2.5ヶ月	生存
29	PD	2.5ヶ月	生存
30	PD	2.5ヶ月	生存
31	PD	1.0ヶ月	生存

NKT 細胞を用いた免疫細胞治療における免疫モニタリングに関する研究

研究分担者：中山 俊憲	千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学	教授
研究協力者：加藤 美紀	千葉大学未来医療教育研究センター	特任研究員
三瀬 直子	千葉大学大学院医学薬学府	大学院生

研究要旨

αGalCer パルス樹状細胞の静脈内投与(Chiba-NKT)に関する第Ⅱ相臨床研究を施行するために調製された、患者自己末梢血単核球由来αGalactocylceramide (αGalCer)提示樹状細胞の表面上に発現する抗原分子の検討を行った。従来の樹状細胞マーカーとされる HLA-DR、CD11c、CD86 および単球マーカーである CD14 の発現率を検討したところ、各樹状細胞表面マーカーは症例間で発現率に差は認めなかったものの、各症例ともに各投与細胞間で比較的安定した発現を示すとともに、CD14 分子の発現低下を認めた。また、治療前後の患者末梢血 NKT 細胞、NK 細胞の増加率を算出したところ、それぞれ 31 例中 12 例および 18 例で有意な増加を認めた。さらにαGalCer 特異的インターフェロンγ産生細胞能の検討を 29 例で行い、20 例で Chiba-NKT 後の産生細胞数の増加を検出した。これらの免疫パラメーターが主要評価項目である生存期間とどのように相関するか、今後の追跡調査の結果と合わせて引き続き検討を加える必要がある。

A. 研究目的

アフエレーシスによって採取された末梢血より誘導し、NKT 細胞特異的リガンドであるαGalactocylceramide (αGalCer) をパルスし提示させた樹状細胞は *in vivo* で NKT 細胞を認識し、活性化することが期待される。患者末梢血より誘導した樹状細胞について、表面抗原マーカーを中心とした質的評価を行い、免疫細胞療法における臨床効果との関係を検討する。また、この治療用免疫細胞であるαGalCer パルス樹状細胞の作用機序として、体内で NKT

細胞を活性化することによって抗腫瘍効果に役割を果たすことに加えて、他の免疫細胞も活性化することが考えられていることから、細胞投与と臨床効果との因果関係を証明するには、*in vivo* における免疫反応を客観的に評価する必要がある。そこで治療期間中に採取した患者末梢血単核球を用いて *in vivo* での NKT 細胞特異的な免疫反応を解析した。

B. 研究方法

1) 投与細胞の免疫モニタリング

患者末梢血単核球より誘導した樹状細胞分画を含んだ培養細胞集団を用いることで、効率良く NKT 細胞を活性化できることはすでに示されており、樹状細胞の特徴となる基本的な表面抗原に関しても発現検討がなされてきている。しかし培養細胞の発現する抗原分子の中で抗原提示細胞としての機能を適切に反映し、治療効果の予測が可能となりうるマーカーが存在しないことから、樹状細胞の代表的な表面抗原マーカーである HLA-DR、CD11c、CD86 の発現をフローサイトメトリー法にて検討した。さらに成分採血にて採取した直後の末梢血単核球にて強い発現を認め、樹状細胞への分化誘導にて発現が著しく低下することが知られている CD14 分子の細胞表面発現割合の検討を行い、末梢血における免疫反応や臨床効果との関係を検討した。

2) 治療前後の末梢血単核球モニタリング

Chiba-NKT による生体内での反応を確認するため、末梢血単核球中における NKT 細胞数および NKT 細胞活性化にて 2 次的な活性化が期待される NK 細胞数について、フローサイトメトリー法にて検討した。NKT 細胞は CD3 陽性、V α 24 抗原受容体陽性、V β 11 抗原受容体陽性細胞と定義し、NK 細胞は CD3 陰性かつ CD56 陽性と定義した。さらに α GalCer が提示された樹状細胞によって刺激される細胞は主に V α 24⁺V β 11⁺ NKT 細胞であるが、

α GalCer 反応性のすべての細胞を測定するためのもう一つの方法として、 α GalCer-CD1d テトラマーを用いたフローサイトメトリー解析を一部の症例に行い、CD3⁺ α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞数の検討を行った。末梢血リンパ球中の NKT 細胞、NK 細胞、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞の割合を測定し、血液学的検査で得られた全白血球数とリンパ球分画の割合を元に、各治療ポイントでの末梢血 1 mL あたりの NKT 細胞数、NK 細胞数、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞数を算出した。治療開始時の NKT 細胞数、NK 細胞数を基準として、治療介入後の NKT 細胞数、NK 細胞数の増加割合とそこでの最大増加割合を求め、臨床効果との比較を行った。さらに凍結保存した末梢血単核球を用いて、*in vitro* で α GalCer によって再刺激した際の α GalCer 特異的インターフェロン γ (IFN- γ) 産生細胞数を、ELISPOT 法を用いて各症例ごとに同時に測定した。この assay 系における IFN- γ 産生細胞は、活性化した NKT 細胞のみならず、NKT 細胞の発揮する免疫増強効果によって活性化した NK 細胞の一部も寄与することが判明している。

(倫理面への配慮)

本研究は免疫モニタリングとして臨床研究に含まれる研究であり、臨床研究全体として千葉大学大学院医学研究院倫理審査委員会による承認を受けている。全

ての被験者に対して文書による説明と同意を得ている。用いた検体は全て匿名化されており、個人情報の管理にも十分配慮をして研究を実施している。

C. 研究結果

1) 投与細胞の免疫モニタリング

成分採血にて得られた末梢血単核球より誘導し、治療に用いた投与細胞における表面抗原として、HLA-DR、CD11c、CD86 および CD14 分子の発現割合を検討すると、症例間で発現率に差は認められたものの、各症例ともに 4 回の投与細胞で比較的安定した発現を示した (表 1)。特に NKT 細胞と樹状細胞の相互作用に重要な補助シグナル分子である CD86 は各症例とも高い割合で発現を認めている。これまでに投与された培養細胞全体の各マーカーの平均発現率は、HLA-DR が 63.6%、CD11c が 24.2%、CD86 が 72.6%、CD14 は 2.3%であった。

2) 治療前後の末梢血単核球モニタリング

治療開始時と比較し、全コースを通じて NKT 細胞数が 1.5 倍以上の増加を認めたのは 31 例中 12 例であり、NK 細胞が 1.5 倍以上増加を認めたのは 18 例であった (表 2)。さらに各コース開始時点を基準として、NKT 細胞数の増減を解析してみると、1 コースまたは 2 コース開始時から増加を認めた症例は、31 例中 14 例であった。またこれまでに 16 例にて α GalCer-CD1d テトラマー

解析が実施された。 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞は $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT 細胞と同様の動態を示すが、 α GalCer に反応する細胞として $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT 細胞より幅広い細胞群を検出することから、Chiba-NKT によって $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT 細胞が 7 例の増加に留まったのに対して、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞は 14 例で増加を示すことが判明した。

機能解析のための末梢血単核球中の α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討を 29 例で行い、治療開始時と比較し 20 例で治療経過中に 2 倍以上の明らかな増加を認めた (表 2)。IFN- γ 産生細胞数が増加を認めた 20 例における腫瘍縮小効果は、partial response (PR) 1 名、stable disease (SD) 8 名、progressive disease (PD) 11 名である一方、増加を認めなかった症例における腫瘍縮小効果は PR 0 名、SD 5 名、PD 4 名であった。今後、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数と全生存期間との関連について、追跡調査によって全生存期間を確定させた後に検討を行う。

3) 樹状細胞上の表面抗原発現率と NKT 細胞特異的免疫反応の関連性の検討

α GalCer パルス樹状細胞の表面抗原発現と末梢血 NKT 細胞の増加の関係を検討するために、末梢血 NKT 細胞が開始時より増加した症例群 (症例 6, 8, 9, 12, 13, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 30) とそれ以外の症例群における、樹状細

胞上の表面抗原発現率を比較してみると、HLA-DR 発現は増加群 63.8%、非増加群 64.1%、CD11c 発現は増加群 25.5%、非増加群 23.5%、CD86 発現は増加群 70.0%、非増加群 74.9%、CD14 発現は増加群 2.1%、非増加群 2.4%と顕著な差を認めなかった。

一方、樹状細胞の表面抗原発現が α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数に及ぼす影響を検討するために、IFN- γ 産生細胞増加群と非増加群における表面マーカーの発現割合を検討すると、HLA-DR 発現は増加群 67.6%、非増加群 54.5%、CD11c 発現割合は増加群 25.0%、非増加群 22.1%、CD86 発現割合は増加群 73.5%、非増加群 73.0%、CD14 発現割合は増加群 2.4%、非増加群 1.9%であり、IFN- γ 産生細胞増加群で HLA-DR の発現が高い傾向を認めたが、その他に表面抗原発現に差は認められなかった。今後さらに症例を重ねて検討するとともに、主要評価項目である全生存期間のデータ確定を得てさらに検討を行う予定である。

D. 考察

α GalCer パルス樹状細胞のモニタリングとして、樹状細胞の代表的な表面マーカーである HLA-DR と CD11c、CD86 および単球マーカーの CD14 分子による評価を継続して行った。その結果、特に樹状細胞と NKT 細胞の相互作用に必要な補助シグナル分子であり、樹状細胞の成熟化や

NKT 細胞の活性化とサイトカイン産生に重要な働きをする CD86 分子がこれまで同様に安定して高発現していることが明らかとなった。また樹状細胞のもととなる単球で高発現する表面マーカー CD14 分子は低下もしくはほぼ消失しており、単球から樹状細胞への誘導は問題無くなされていると考えられた。また昨年度の解析にても抗原提示細胞における重要性が示唆された HLA-DR 分子の発現が、症例数を重ねて行った本年度の解析においても IFN- γ 産生細胞増加群において高い傾向を示したことは、本培養系における抗原提示細胞の機能発現に HLA-DR 分子が重要なマーカーとなる可能性を示唆しており、今後 35 例までの検討にて NKT 細胞活性化における HLA-DR 分子発現の意義とその役割を明らかにしていく。

治療前後での末梢血単核球を用いた NKT 細胞特異的免疫反応のモニタリングを施行することで、惹起することが期待されている Chiba-NKT 特異的な免疫反応を捉え、抗腫瘍効果における免疫学的作用機序解明が進むことが期待されている。さらには Chiba-NKT 特異的免疫反応と臨床効果との関係を証明することが可能となれば、臨床効果を反映するバイオマーカーとして利用することも期待出来る。今回免疫モニタリングとして、NKT 細胞、NK 細胞数の変化に加えて、 α GalCer-CD1d テトラマーを用いた α GalCer 反応性 T 細胞の検出を試みた。 α GalCer-CD1d テトラマーにて染色され

る細胞のほとんどは V α 24⁺V β 11⁺ invariant NKT 細胞であるが、T 細胞抗原受容体が V α 24⁺V β 11⁺の組み合わせでない non-invariant T 細胞抗原受容体を発現する conventional T 細胞を含むことがこれまでに報告されている。しかしこの細胞の多寡や増減が腫瘍免疫において果たす役割や意義については明らかとなっておらず、Chiba-NKT 投与後の動態の意義についても不明である。今後更にデータを追加し検討を重ねることで、V α 24⁺V β 11⁺ NKT 細胞と α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞の免疫モニタリングとしての役割の違いを明らかにしていく。

さらに NKT 細胞の機能変化として、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討を行った。 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討が終了した 29 例中、20 例で 2 倍以上の IFN- γ 産生細胞数の増加を認め、臨床効果 PR の 1 例および SD の 8 例で、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の増加を認めている。現時点では臨床効果との関連は明らかでは無いが、これまでの報告からは全生存期間との関連が最も重要となることから、今後の予後追跡調査から得られる全生存期間の確定を行って、免疫反応データとの関連を検討していく。またこれらの治療経過に沿って得られる免疫バイオマーカーに加えて、治療前に得られている免疫モニタリングのデータが、治療効果の予測を可能とするバイオマーカーとなりうるか、検討を進めていく予定である。

E. 結論

Chiba-NKT における α GalCer パルス樹状細胞の細胞表面抗原発現解析から、樹状細胞関連マーカーが細胞調製にて比較的安定した発現を示すことが明らかとなり、その中でも HLA-DR 発現の重要性が示唆された。また、 α GalCer パルス樹状細胞投与後に α GalCer 特異的 IFN- γ 産生細胞能の増強を認めた症例は全体の 69%であった。これまでの報告から、これらの症例では生存期間延長効果が得られる可能性があり、今後主要評価項目である生存期間の確定とともに更なる検討を加えていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Iinuma, T., Okamoto, Y., Yamamoto, H., Inamine-Sasaki, A., Ohki, Y., Sakurai, T., Funakoshi, U., Yonekura, S., Sakurai, D., Hirahara, K. and Nakayama, T.
Interleukin-25 and mucosal T cells in noneosinophilic and eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* in press.
2. Nakagomi, D., Suzuki, K., Meguro, K., Hosokawa, J., Tamachi, T., Takatori, H., Suto, A., Matsue, H., Ohara, O., Nakayama, T., Shimada, S. and Nakajima, H. Matrix metalloproteinase 12 is produced by M2 macrophages and plays important roles in the development of contact hypersensitivity. *J. Allergy. Clin. Immunol.* in press.
3. Endo, Y., Hirahara, K., Iinuma, T., Shinoda, K., Tumes, D. J., Asou, K. H., Matsugae, N., Obata-Ninomiya, K., Yamamoto, H., Motohashi, S., Oboki, K., Nakae, S., Saito, H., Okamoto, Y. and

- Nakayama, T. The Interleukin-33-p38 kinase axis confers memory T helper 2 cell pathogenicity in the airway. *Immunity* 42(2):294-308 (2015)
4. Mishima, Y., Wang, C., Miyagi, S., Saraya, A., Hosokawa, H., Mochizuki, K. M., Nakajima, T. Y., Koide, S., Negishi, M., Sashida, G., Naito, T., Ishikura, T., Onodera, A., Nakayama, T., Tenen, D. G., Yamaguchi, N., Koseki, H., Taniuchi, I. and Iwama, A. Histone acetylation mediated by Brd1 is crucial for *Cd8* gene activation during early thymocyte development. *Nat. Commun.* 5:5872 (2014)
 5. Tanaka, S., Suto, A., Iwamoto, T., Kashiwakuma, D., Kagami, S., Suzuki, K., Takatori, H., Tamachi, T., Hirose, K., Onodera, A., Suzuki, J., Ohara, O., Yamashita, M., Nakayama, T. and Nakajima, H. Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via ROR γ t induction as downstream targets of Stat3. *J. Exp. Med.* 211(9):1857-1874 (2014)
 6. Watanabe, Y., Onodera, A., Kanai, U., Ichikawa, T., Obata-Ninomiya, K., Wada, T., Kiuchi, M., Iwamura, C., Tumes, D. J., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K. and Nakayama, T. Trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111 (35):12829-12834 (2014)
 7. Sakurai, T., Inamine, A., Inuma, T., Funakoshi, U., Yonekura, S., Sakurai, D., Hanazawa, T., Nakayama, T., Ishii, Y. and Okamoto, Y. Activation of invariant natural killer T cells in regional lymph nodes as new antigen-specific immunotherapy via induction of interleukin-21 and interferon- γ . *Clin. Exp. Immunol.* 178(1):65-74 (2014)
 8. Kuwahara, M., Suzuki, J., Tofukuji, S., Yamada, T., Kanoh, M., Matsumoto, A., Maruyama, S., Kometani, K., Kurosaki, T., Ohara, O., Nakayama, T. and Yamashita, M. The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T-cell senescence and cytokine homeostasis. *Nat. Commun.* 5:3555 (2014)
 9. Suzuki, K., Nagao, T., Itabashi, M., Hamano, Y., Sugamata, R., Yamazaki, Y., Yumura, W., Tsukita, S., Wang, P. C., Nakayama, T. and Suzuki, K. A novel autoantibody against moesin in the serum of patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 29(6):1168-1177 (2014)
 10. Beaulieu, A. M., Zawislak, C. L., Nakayama, T. and Sun, J. C. The transcription factor Zbtb32 controls the proliferative burst of virus-specific natural killer cells responding to infection. *Nat. Immunol.* 15(6):546-553 (2014)
 11. Onodera, A., Tumes, D. J. and Nakayama, T. Epigenetic control of immune T cell memory. *Transcriptional and Epigenetic Mechanisms Regulating Normal and Aberrant Blood Cell Development* 367-382 (2014)
2. 学会発表
1. 中山 俊憲 Pathogenic Th2 細胞による慢性アレルギー性気道炎症制御 第 16 回京都アレルギークロストーク 2015 年 2 月 19 日, 京都
 2. 中山 俊憲 眼からウロコの免疫による炎症病態制御 角膜カンファレンス 2015 共催セミナー 2015 年 2 月 12 日, 高知
 3. 中山 俊憲 Pathogenic memory Th2 細胞とアレルギー性炎症制御 角膜カンファレンス 2015 2015 年 2 月 11-13 日, 高知
 4. 中山 俊憲 免疫記憶研究と免疫システム統御治療学～研究者を目指す若手

- 医師へのメッセージ〜Meet the Experts
in Niigata 2015 年 1 月 22 日, 新潟
5. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in airway inflammation. IMP Seminar, 12/18/2014, New York
 6. Watanabe, Y., Onodera, A., Ichikawa, T., Obata-Ninomiya, K., Wada, T., Kiuchi, M., Morimoto, Y., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K. and Nakayama, T. The trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 7. Tanaka, S., Suto, A., Iwamoto, T., Suzuki, K., Takatori, H., Tamachi, T., Hirose, K., Onodera, A., Suzuki, J., Ohara, O., Yamashita, M., Nakayama, T. and Nakajima, H. Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via ROR γ t induction as downstream targets of Stat3. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 8. Izumoto, M., Kuwahara, M., Kiyoi, T., Shinoda, K., Nakayama, T., Kurosaki, T. and Yamashita, M. Bach2-Blimp1 axis plays an important role in the regulation of allergic airway inflammation. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 9. Onodera, A. and Nakayama, T. Polycomb and Trithorax complexes control epigenetic memory of T helper cells. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 10. Yagi, R., Sarkar, H. M., Soh, T., Nakayama, T. and Zhu, J. IL-9 production is a transient feature of differentiating Th2 cells in response to TGF β . 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 11. Hosokawa, H., Shinoda, K., Suzuki, A., Ito, T. and Nakayama, T. Functionally distinct GATA3 complexes regulate Th2 cell differentiation and proliferation. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 12. Obata-Ninomiya, K., Nei, Y., Tsutsui, H., Ishiwata, K., Miyasaka, M., Matsumoto, K., Nakae, S., Kanuka, H., Inase, N., Nakayama, T. and Karasuyama, H. GATA-1 controls the generation and function of basophils. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 13. Hashimoto, K., Goto, S., Hatogai, Y., Sawai, R., Ohosawa, H. and Nakayama, T. Immunosenescence in B cell differentiation related to the expression Toll-like receptor gene. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 14. Hirahara, K., Wada, T., Nakayama, T. and O'Shea, J. J. Asymmetry of STAT action to define specificity and redundancy of IL-27 and IL-6 signals. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 15. Nagato, K., Motohashi, S., Nakayama, T., Yoshino, I. and Nishimura, I. M. Human melanoma antigen-specific iNKT cells engineered by the TIL 1381 T cell receptor gene transfer. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 16. Kunii, N., Makita, Y., Ihara, F., Uchida, R., Fujikawa, A., Sakurai, D., Motohashi, S., Nakayama, T. and Okamoto, Y. Antigen specific immunotherapy based on chimeric antigen receptor expressing T cells targeted to salivary gland tumor. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 17. Kimura, M., Hayashizaki, K., Singer, A. and Nakayama, T. Molecular basis for

- functional (helper versus cytotoxic) lineage fate decisions during thymocyte development. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
18. Tanno, H., Kanno, E., Suzuki, A., Takagi, N., Kamimatsuno, R., Ishii, K., Nakayama, T., Taniguchi, M. and Kawakami, K. Lack of NKT cells leads to persisted infiltration of neutrophils and delayed wound healing process in skin. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 19. Nakayama, T., Endo, Y., Tumes, J. D. and Hirahara, K. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 20. 中山 俊憲 病原性記憶 Th2 細胞によるアレルギー性気道炎症制御 分子免疫学セミナー 2014 年 12 月 5 日, 徳島
 21. 中山 俊憲 NKT 細胞免疫系をターゲットにした肺癌と頭頸部がんの免疫細胞治療—これまでの臨床研究の成果と今後の展望— 第 27 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2014 年 12 月 4-5 日, 大阪
 22. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞の形成と維持機構 感染症研究グローバルネットワークフォーラム 2014 2014 年 11 月 15 日, 千葉
 23. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. Symposium of the International Leibniz Research Cluster ImmunoMemory, Organisation of Immunological Memory, 11/4-5/2014, Berlin
 24. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in airway inflammation. The Fourth International Conference on Regulatory T Cells and T Helper Cell Subsets and Clinical Application in Human Diseases, 11/1-4/2014, Shanghai
 25. Nakayama, T. Effector T cell differentiation for allergic responses. Novo nordisk innovation summit 10/1-2/2014, Tokyo
 26. 長谷川 明洋, 荻野 英賢, 大津山 賢一郎, 中山 俊憲 アレルギー性炎症の誘導にともなうリンパ球浸潤に関与する分子の解析と細胞集積のイメージング 第 23 回日本バイオイメージング学会学術集会 2014 年 9 月 4-6 日, 大阪
 27. Nakayama, T., Endo, Y., Tumes, D. J. and Hirahara, K. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. The 2nd Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum (IIMVF). 8/25/2014, USA
 28. 中山 俊憲 NKT 細胞免疫系をターゲットにした肺癌と頭頸部癌の免疫細胞治療—10 年間の臨床研究の成果と今後の展望— 琉球大学大学院医学研究科 (臨床研究) 特別セミナー 2014 年 7 月 4 日, 沖縄
 29. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞と気道炎症制御 沖縄感染免疫シンポジウム 2014 2014 年 7 月 3 日, 沖縄
 30. Nakayama, T. Generation and maintenance of pathogenic memory Th2 cells. RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2014, 6/26-27/2014, Yokohama
 31. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞と気道炎症制御 Advanced Seminar Series on Microbiology and Immunology 2014 年 6 月 18 日, 大阪
 32. 細川 裕之, 加藤 美紀, 中山 俊憲 Functionally distinct GATA3 complexes regulate Th2 cell differentiation and proliferation. 第 24 回 Kyoto T cell Conference 2014 年 5 月 16-17 日, 京都
 33. Tumes, J. D., Onodera, A., Hosokawa, H., Koseki, H., Suzuki, Y., Motohashi, S. and Nakayama, T. The polycomb protein Ezh2 regulates differentiation and plasticity of CD4 T helper type-1 and type-2 cells.

- 第 24 回 Kyoto T cell Conference 2014
年 5 月 16-17 日, 京都
34. Kimura, Y. M., Yagi, R., Nakayama, T.
and Singer, A. Strong TCR signaling
prolongs lineage uncertainly during
MHC-I specific positive selection. 第 24
回 Kyoto T cell Conference 2014 年 5 月
16-17 日, 京都
35. 飯沼 智久, 山本 陸三朗, 櫻井 利興,
船越 うらら, 米倉 修二, 櫻井 大樹,
中山 俊憲, 岡本 美孝 アレルギー性
鼻炎における pathogenic memory T 細胞
の検討 第 26 回日本アレルギー学会春
季臨床大会 2014 年 5 月 9-11 日, 京都
36. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞に
よる慢性気道炎症制御 第 54 回日本
呼吸器学会学術講演会 2014 年 4 月
25-27 日, 大阪

G. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得

登録日:平成 27 年 1 月 9 日, 登録番号:
特許第 5674082 号, 出願日:平成 21 年 8
月 31 日,「NKT 細胞リガンドをパルスし
た抗原提示細胞による抗腫瘍療法の有
効性の予測方法」, 発明者:本橋 新一郎
(国立大学法人千葉大学大学院医学研究
院), 中山 俊憲 (国立大学法人千葉大学
大学院医学研究院), 沖田 幸祐 (発明完
成時:千葉大学特別研究学生), 出願人:
国立大学法人千葉大学、高信化学株式会
社, 出願番号:特願 2009-200911 号

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 投与細胞中の樹状細胞関連表面抗原発現割合

症例	HLA-DR	CD11c	CD86	CD14
1	50.4±13.2	33.2±15.9	70.0±6.4	2.2±2.0
2	49.1±7.7	29.2±9.4	81.7±12.1	0.7±0.4
3	21.9±12.7	44.1±13.9	65.6±19.3	1.0±0.6
4	46.8±10.7	32.4±9.1	72.7±15.5	2.4±1.0
5	42.5±19.3	7.7±2.1	90.2±5.7	1.0±0.2
6	64.7±17.6	28.6±9.3	88.2±11.0	1.6±0.9
7	69.7±1.7	12.5±3.8	77.1±9.8	0.6±0.1
8	66.8±13.3	36.3±13.9	69.2±19.9	0.8±0.1
9	59.4±9.7	15.0±8.2	66.6±3.2	0.6±0.2
10	81.9±7.0	12.7±4.5	82.9±6.3	1.1±0.9
11	80.4±9.5	22.8±4.0	79.0±17.3	0.7±0.3
12	84.9±4.9	15.2±4.6	86.0±7.4	1.0±0.9
13	84.7±4.6	12.4±2.3	80.7±10.2	1.1±0.2
14	91.9±3.9	28.9±8.2	90.8±7.2	1.0±0.5
15	51.1±10.8	27.9±7.1	66.3±15.7	3.3±2.5
16	85.9±5.7	15.3±4.2	87.0±6.4	1.3±0.4
17	73.8±15.2	41.2±14.3	66.7±27.7	5.4±2.1
18	86.0±10.5	14.1±2.5	79.5±13.7	6.6±4.7
19	95.1±3.2	9.6±3.8	90.4±5.6	4.8±0.9
20	93.4±2.6	33.1±3.4	83.8±6.8	4.8±2.6
21	44.6±5.3	29.9±0.9	33.1±14.5	5.8±3.9
22	74.2±11.0	42.0±9.3	77.1±21.3	2.8±1.3
23	58.5±3.8	24.8±5.8	51.7±26.4	4.2±2.2
24	21.1±16.1	26.0±8.6	52.3±24.9	3.6±3.1
25	62.5±11.1	20.1±3.4	51.1±20.1	1.8±1.0
26	24.7±5.1	24.2±8.1	51.6±26.1	1.5±0.7
27	47.7±7.9	29.9±13.3	74.1±17.8	1.6±0.3
28	90.3±4.2	18.0±2.9	89.7±4.8	1.6±0.8
29	50.9±10.9	21.9±9.3	50.8±25.6	2.4±0.4
30	38.0±9.4	28.5±12.0	54.7±22.7	2.9±0.6
31	84.5±6.1	19.3±1.9	81.4±8.4	2.7±0.9

表 2 臨床効果および NKT 細胞特異的免疫反応

症例	臨床効果	NKT細胞数 増加	NK細胞数 増加	IFN- γ 産生細胞数増加
1	SD	1.0	1.1	2.3
2	PD	0.3	3.7	1.9
3	PR	1.4	3.0	5.9
4	SD	0.9	1.1	0.8
5	SD	0.3	1.2	1.5
6	SD	3.5	1.1	4.4
7	PD	1.0	2.2	6.5
8	PD	1.6	1.4	1.2
9	PD	3.5	1.5	4.6
10	PD	1.4	1.6	2.1
11	PD	0.4	1.2	1.7
12	SD	5.1	2.0	1.4
13	SD	4.0	2.1	1.8
14	PD	0.4	1.7	2.1
15	PD	0.4	1.8	5.2
16	PD	0.5	1.5	2.5
17	SD	1.0	1.7	2.6
18	PD	1.3	1.2	3.8
19	PD	0.4	2.7	5.1
20	SD	3.7	1.4	6.7
21	PD	0.5	1.0	1.4
22	PD	3.3	1.8	3.4
23	PD	2.1	1.3	2.2
24	SD	1.4	1.3	2.8
25	SD	7.5	1.7	1.9
26	SD	3.2	1.8	1.8
27	SD	1.6	0.7	2.6
28	SD	1.4	2.3	3.1
29	PD	0.3	1.3	4.1
30	PD	2.3	3.1	n.d.
31	PD	0.5	3.2	n.d.

SD: stable disease, PD: progressive disease, PR: partial response, n.d.: not done

NKT 細胞を用いた免疫細胞治療の臨床試験の管理・推進に関する研究

研究分担者：花岡 英紀 千葉大学医学部附属病院 臨床試験部 教授

研究協力者：藤川 陽 千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学 特任助教

研究要旨

千葉大学医学部附属病院未来開拓センターで実施される細胞治療の試験の管理・推進を ICH-GCP 基準として実施する必要がある。このため、本試験の実施において、未来開拓センター内の推進部を中心に、専門の CRC を配置するとともにモニタリングおよび監査、データマネジメント業務を平行して実施する体制を整備し、これを実施した。

A. 研究目的

本研究では、試験の適切な遂行を目的として、ICH-GCP 基準の臨床試験実施体制の整備を行い、さらに、これに基づく試験を展開することを目的とする。

B. 研究方法

本研究においては、昨年に続き、以下の検討を行った。

- (1) 試験の実施体制の整備と実施
- (2) モニタリング体制の整備と実施
- (3) 監査体制の整備と実施
- (4) データマネジメントの整備と実施

C. 研究結果

検討結果は以下の通り

- (1) 臨床試験の実施においてはプロジェクトを管理する専任のスタッフを配置するとともに、定期的な調整会議を責任医師の出席のもと継続的に毎月

行い、症例の組み入れ進捗管理や、有害事象の発生状況の確認、発生時の対応などを実施した（今年度は計 12 回開催した）。また、本試験に関与する多くのスタッフの連携を図ることも調整会議およびプロジェクトを管理するスタッフの重要な役目である（資料 1）。

- (2) 参加登録した被験者の組み入れ基準や試験の参加状況に関するモニタリング業務を行った。
- (3) 試験の実施状況は、当院倫理審査委員会において確認を行っている（実施状況報告書の提出）。
- (4) データマネジメント業務において、本試験を実施するためのクリニカルデータマネジメントシステム（CDMS）構築の上、試験の稼働に合わせてデータマネジメント業務と症例登録業務を実施している。CRF の

回収状況としては、全体の 50%程度である。毎月 SDV を 1~2 回行い、クエリー対応も実施中である。症例登録業務においては、被験者の適格性を第三者の立場から確認する作業を SOP に沿って実施している。

データマネジメント業務においては、SOP 及び DM 計画書に定める業務手順に沿って、症例報告書管理、データ入力（ダブルデータエントリー）、データクリーニングを中心に現在、業務を遂行している。CRF 作成からデータ固定までに発生する一連の作業手順を確立させ、臨床試験の品質確保とデータの信頼性の向上を図っている。有害事象については SAE 報告が今年度 2 回（2 症例）発生した。これらに対する CRC の支援を行った。

原疾患の悪化による試験継続中止の後、標準治療の化学療法のため入院となった事例であり、因果関係なしと報告されている。

D. 考察

本研究において以下の考察を行った。

- (1) 本研究においては、試験の実施体制として継続的な研究チーム内部の連携を図ることによって、試験全体の推進をスムーズに行うことが可能となっている。専門性をもつスタッフと責任医師分担医師によって構成された研究チームにより試験の継続が可能となっている

- (2) モニタリングによるデータの回収作業およびその登録作業について、ひきつづき実施していく必要がある。最終の症例が来年度組み入れられる予定であり、今後、終了に向けた作業に着いても準備が必要である。
- (3) 監査業務については、前向きな監査の実施が必要であり、これによって試験の実施を適切なものとする必要がある。
- (4) データマネジメント業務は、症例の適格性とデータの信頼性の上で実施されているが、継続的なデータマネジメント業務により試験全体の進捗にも大きく影響を及ぼすものとなる。また安全性情報の適切な管理も必要であり、SAE を含めた管理が実施可能となっている。

E. 結論

本研究では千葉大学医学部附属病院未来開拓センターで実施される NKT 細胞を用いた免疫細胞治療（Chiba-NKT）の試験を一部体制の修正を行いながら ICH-GCP 基準として継続して実施することが可能となった。

F. 研究発表

1. 論文発表
なし
2. 学会発表
なし