

## NKT 細胞を用いた免疫細胞治療の実施と追跡調査に関する研究

研究分担者：吉野 一郎	千葉大学大学院医学研究院	呼吸器病態外科学	教授
研究協力者：吉田 成利	千葉大学大学院医学研究院	呼吸器病態外科学	准教授
岩田 剛和	千葉大学医学部附属病院	呼吸器外科	講師
鈴木 秀海	千葉大学医学部附属病院	呼吸器外科	助教
中島 崇裕	千葉大学医学部附属病院	呼吸器外科	助教
鎌田 稔子	千葉大学大学院医学薬学府		大学院生
田中 教久	千葉大学大学院医学薬学府		大学院生

### 研究要旨

進行・再発非小細胞肺癌の抗癌剤による初回治療後の症例に対して、 $\alpha$ GalCer パルス樹状細胞の静脈内投与（Chiba-NKT）を行った。試験開始より 2015 年 3 月末までに 33 例が登録され、28 例でプロトコール完遂、3 例は study off、2 例は進行中である。本臨床研究の主要評価項目である全生存期間確定のための追跡調査の結果、11 例において原病死が確認され、それ以外の症例に関しては生存を確認した。生存が確認された症例に対しては引き続きプロトコールに沿って追跡調査を行う。プロトコール治療の終了した 31 例における臨床効果は、完全奏功（CR）0 例、部分奏功（PR）1 例、安定（SD）13 例、進行（PD）17 例であった。来年度早期に予定症例数である 35 例までの症例組み入れを完了した上で、治療期間を終了後に 2 年間の追跡調査を実施し、全生存期間・無増悪生存期間の確定を行う予定である。

### A. 研究目的

日本における原発性肺癌の新規罹患患者数は 2012 年には約 11 万人と推定されているのに対して、7 万人以上が原発性肺癌によって死亡しており、極めて難治性な疾患の一つであり、がん死の原因疾患として 1 位を占める。加えて近年の高齢者数の急速な増加とともに、高齢者に多く発生する肺癌の罹患患者数は増加の一途を辿ってお

り、それにともなって死亡者数も今後ますます増加することが予想されている。肺癌の根治を目指した治療法は外科的切除であり、早期発見による切除可能な肺癌が増えているものの、発見時に手術適応となるのは約半数と限られている。切除不能進行期肺癌や肺癌術後再発の治療は主に抗癌剤による全身治療が中心となる。近年開発が進んだ新規の抗癌剤や分子標的薬など

の登場により、切除不能進行期肺癌や肺癌術後再発の治療成績は徐々に向上しているものの、依然完治は望めず、治療成績はいまだ満足できるものではないことから、治療成績の向上が強く望まれている。そこで肺癌に対する新規治療開発研究としてこれまでに千葉大学で研究を進めてきた、Natural Killer T (NKT) 細胞を標的とした免疫細胞治療として、切除不能進行期及び術後再発非小細胞肺癌症例に対する、 $\alpha$ -Galactosylceramide ( $\alpha$ GalCer) パルス樹状細胞の静脈内投与 (Chiba-NKT) の第 Ⅰ 相臨床研究を先進医療として実施し、その有効性を検討することを本研究の目的とする。

## B. 研究方法

適格基準を全て満たし、かつ除外基準全てに該当しない患者を登録した。全ての症例に関し、試験担当医師が症例登録票に記入、適格基準判定委員会にて判定を行った上で登録を行った。

登録患者に対し、成分採血にて採取した自己末梢血単核球由来 $\alpha$ GalCer パルス樹状細胞を受け取り、当該患者に対し点滴静注を施行した。同様のスケジュールで 6 週目 (day 42) から 2 クール目を施行した。

腫瘍縮小効果の判定として、試験開始前に撮影した胸腹部 CT にて検出された測定可能病変から標的病変を設定し、終了時に撮影した画像と比較検討し、RECIST ver.1.1 に基づいて効果判定を行った。また試験終了後の患者に対し 6 ヶ月ごとの

追跡調査を行い、全生存期間ならびに無増悪生存期間を求めた。

(倫理面への配慮)

本研究の実施にあたり、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。また全ての被験者に対し口頭ならびに文書によるインフォームドコンセントを得ている。

## C. 研究結果

- 1) 試験開始から 2015 年 3 月末までに 53 例に対して文書による説明の上、同意取得を行い適応精査を行ったところ、33 例において適格基準・除外基準に適合し、登録を行った。そのうち本年度の新規登録は 14 例であり、昨年度から継続している 3 例と合わせて 16 例で細胞治療を施行した。残りの 1 例は登録を完了し、治療開始直前の状態である。これまでに登録された全 33 例のうち、28 例ですでにプロトコル治療を完遂し追跡期間へと移行、3 例は試験途中で原病悪化により明らかな腫瘍増大を認めため標準治療へと変更することとし、1 コースにて試験を中止して追跡期間へと移行、2 例は 2015 年度末現在で治療期間中である。
- 2) 主要評価項目である全生存期間に関しては、試験中止となった症例も含めて臨床研究治療期間を終了した全ての症例にて、プロトコルに沿った追跡調査を実施している。登録された全症例の中で治療期間が終了した 31 例に対

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と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 年を超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いる。

## 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 期非扁平上皮・非小細胞肺癌に対するペバシズマブ併用術前導入療法の第 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 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, Tronto 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