

Fig 4. Schematic drawing showing cross-sectional views indicating the distance between the edge of the tumor and the splenic artery in patients treated with (A) standard DP. Ao, Aorta; ca, celiac axis; cha, common hepatic artery; panc, pancreas; sa, splenic artery; T, pancreatic carcinoma. The distances (\leftrightarrow) between the tumor edge and the root of the splenic artery for each patient were 23 mm (case 1), 10 mm (case 2), 9 mm (case 3), 8 mm (case 4), and 5 mm (case 5) and (B) patients who underwent standard DP. The patients with tumors situated ≤ 10 mm from the splenic artery had a greater incidence of R1 curability ($P = .001$, χ^2 test).

invasion for portal venous system and artery (double negative invasion; $n = 7$) was greater than that of the other patients ($n = 9$; Fig 5); 5 of the 7 patients with double-negative invasion survived beyond 24 months after DP-CAR.

DISCUSSION

The aim of the present study was to clarify who should and who should not be subjected to DP-CAR in patients with potentially resectable/borderline resectable pancreatic carcinoma. There are several prior reports suggesting that an R0 resection is an essential requirement for long survival. In contrast, an R0 resection is not the only consideration for the impact of survival in advanced pancreatic carcinoma. In our study, recurrence-free survival was greater among patients with R0 than among patients with R1/R2. Recently, long-term survivors after an Appleby operation (DP-CAR) have been reported^{23,24}; the median survival time was 9.5–12 months in a

meta-analysis of 43 patients.²⁵ Despite these reports, indications for DP-CAR remain controversial with regard to the curability and survival benefit.

First, to improve the R0 rate for potentially resectable pancreatic body/tail carcinoma, we investigated the positive surgical margins from resected specimens in patients who underwent standard DP. Five of the 36 patients who underwent standard DP had microscopically positive margins at the nerve plexuses of the root of the SA. In the work by Kanda et al,¹⁷ 13 in 51 cases were positive for infiltration at surgical margins, probably most frequently near the root of the SA. Therefore, we suggest that DP-CAR should be performed to obtain an R0 resection in those patients with potentially resectable pancreatic body/tail carcinoma who would otherwise receive a standard DP. Our results showed that the patients with tumors located within 10 mm from the root of the SA had a greater incidence of R1 curability. Therefore, DP-CAR may offer a survival advantage for the

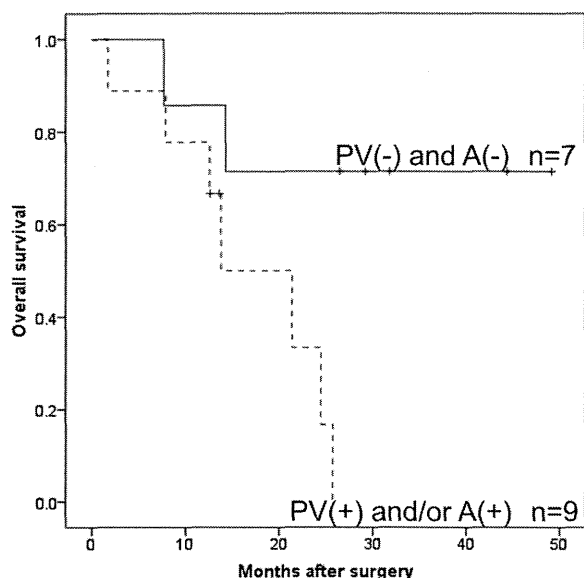


Fig 5. Estimated overall survival rate in patients who were pathologically negative for portal vein system and artery invasion (double-negative invasion; $n = 7$) was greater than that of the other patients ($n = 9$; $P = .023$; log-rank test).

patients with the tumor located within 10 mm from the root of the SA, provided there is no involvement of the portal vein and arterial structures.

Aggressive surgery such as with a DP-CAR is not the only issue to consider in patients with borderline resectable pancreatic carcinoma, because most pancreatic carcinomas recur systemically. Therefore, we should confirm the indications of DP-CAR for the borderline resectable patients. Therefore, we analyzed prognostic factors in the 16 patients with borderline resectable disease. The estimated overall survival rate in patients with pathologically negative invasion for portal venous system and artery (double-negative invasion) was greater than that of the other patients. With regard to the artery invasion, it has been reported that invasion of the SA is a crucial prognostic factor in patients with carcinoma of the body/tail of the pancreas.¹⁷ Moreover, extended pancreatectomy with major arterial resection did not result in any long-term survivors in many previous reports.²⁶⁻²⁹ Therefore, we evaluate carefully the patients with double negative invasion into portal venous system and artery on preoperative imaging study for indication of DP-CAR.

As mentioned, one should consider the issue of tumor biology and acknowledge that most pancreatic carcinomas recur systemically and that tumor involving arterial structures recur rapidly, even after an apparent R0 resection. Therefore, we must balance carefully both tumor biology as

systemic disease and the potential benefit of surgery. DP-CAR can provide a clinical benefit for the patients with borderline resectable pancreatic body/tail carcinoma after the strategy of neoadjuvant therapy. Furthermore, powerful and precise preoperative therapy for patients with borderline resectable pancreatic body/tail carcinoma is required to improve their survival. One group in the United States reported that the neoadjuvant approach allowed for identification of a subset of patients who were most likely to benefit from surgery, as evidenced by the favorable median survival in this group. Patients with favorable responses to preoperative therapy (radiographic evidence of tumor regression and improvement in serum tumor marker levels) were those who had the best chance for R0 resection and a favorable long-term survival.^{30,31}

Survival of patients with more advanced cancers who underwent DP-CAR was similar to the survival of patients with a better prognosis who underwent standard DP, indicating a potential value for DP-CAR. Moreover, in the DP-CAR group, 10 of the 16 patients had microscopically positive margins at the periarterial nerve plexuses or retropancreatic tissue around the root of the celiac axis, but there were no apparent differences concerning survival, although the R0 patients of all cases including standard DP and DP-CAR had a better survival than that of R1 and R2 patients. The short follow-up period and small sample size are the primary limitations of our study and further follow-up should be required for patients with DP-CAR.

In conclusion, DP-CAR was feasible and safe compared with standard DP, and the estimated survival of patients who underwent DP-CAR was the same as that of patients who underwent standard DP. We have to select carefully the patients for whom DP-CAR can be considered as follows: Patients with tumors located within 10 mm from the root of the SA, and the patients with double-negative invasion into portal venous system and artery on preoperative imaging study. We need to develop a more precise preoperative imaging study to help in this selection.

REFERENCES

1. Sener SF, Fremgen A, Menck HR, et al. Pancreatic cancer: a report of treatment and survival trends for 100,313 patients diagnosed from 1985-1995, using the National Cancer Database. *J Am Coll Surg* 1999;189:1-7.
2. Wood HE, Gupta S, Kang JY, et al. Pancreatic cancer in England and Wales 1975-2000: patterns and trends in incidence, survival and mortality. *Aliment Pharmacol Ther* 2006;23:1205-14.

3. Yamamoto M, Ohashi O, Saitoh Y. Japan Pancreatic Cancer Registry: current status. *Pancreas* 1998;16:238-42.
4. Garcea G, Dennison AR, Pattenden CJ, et al. Survival following curative resection for pancreatic ductal adenocarcinoma. A systematic review of the literature. *JOP* 2008;9:99-132.
5. Sperti C, Pasquali C, Pedrazzoli S. Ductal adenocarcinoma of the body and tail of the pancreas. *J Am Coll Surg* 1997;185:255-9.
6. Wu X, Tao R, Lei R, et al. Distal pancreatectomy combined with celiac axis resection in treatment of carcinoma of the body/tail of the pancreas: a single-center experience. *Ann Surg Oncol* 2010;17:1359-66.
7. Watanabe I, Sasaki S, Konishi M, et al. Onset symptoms and tumor locations as prognostic factors of pancreatic cancer. *Pancreas* 2004;28:160-5.
8. Kondo S, Katoh H, Hirano S, et al. Results of radical distal pancreatectomy with en bloc resection of the celiac artery for locally advanced cancer of the pancreatic body. *Langenbecks Arch Surg* 2003;388:101-6.
9. Nakao A, Takeda S, Inoue S, et al. Indications and techniques of extended resection for pancreatic cancer. *World J Surg* 2006;30:976-82.
10. Hirano S, Kondo S, Hara T, et al. Distal pancreatectomy with en bloc celiac axis resection for locally advanced pancreatic body cancer: long-term results. *Ann Surg* 2007;246:46-51.
11. Stitzenberg KB, Watson JC, Roberts A, et al. Survival after pancreatectomy with major arterial resection and reconstruction. *Ann Surg Oncol* 2008;15:1399-406.
12. Tani M, Kawai M, Terasawa H, et al. Prognostic factors for long-term survival in patients with locally invasive pancreatic cancer. *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2007;14:545-50.
13. Neoptolemos JP, Stocken DD, Dunn JA, et al. Influence of resection margins on survival for patients with pancreatic cancer treated by adjuvant chemoradiation and/or chemotherapy in the ESPAC-1 randomized controlled trial. *Ann Surg* 2001;234:758-68.
14. Wagner M, Redaelli C, Lietz M, et al. Curative resection is the single most important factor determining outcome in patients with pancreatic adenocarcinoma. *Br J Surg* 2004;91:586-94.
15. Shimada K, Sakamoto Y, Sano T, et al. Prognostic factors after distal pancreatectomy with extended lymphadenectomy for invasive pancreatic adenocarcinoma of the body and tail. *Surgery* 2006;139:288-95.
16. Howard TJ, Krug JE, Yu J, et al. A margin-negative R0 resection accomplished with minimal postoperative complications is the surgeon's contribution to long-term survival in pancreatic cancer. *J Gastrointest Surg* 2006;10:1338-45.
17. Kanda M, Fujii T, Sahin TT, et al. Invasion of the splenic artery is a crucial prognostic factor in carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Ann Surg* 2010;251:483-7.
18. Farnell MB, Pearson RK, Sarr MG, et al. A prospective randomized trial comparing standard pancreatoduodenectomy with pancreatoduodenectomy with extended lymphadenectomy in resectable pancreatic head adenocarcinoma. *Surgery* 2005;138:618-28.
19. Edge SB, Byrd DR, Compton CC, et al. *AJCC Cancer Staging Manual*, 7th ed. New York: Springer; 2010.
20. Oettle H, Post S, Neuhaus P, et al. Adjuvant chemotherapy with gemcitabine vs observation in patients undergoing curative-intent resection of pancreatic cancer: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007;297:267-77.
21. Kondo S, Katoh H, Hirano S, et al. Ischemic gastropathy after distal pancreatectomy with celiac axis resection. *Surg Today* 2004;34:337-40.
22. Bassi C, Dervenis C, Butturini G, et al. International Study Group on Pancreatic Fistula Definition. Postoperative pancreatic fistula: an international study group (ISGPF) definition. *Surgery* 2005;138:8-13.
23. Mayumi T, Nimura Y, Kamiya J, et al. Distal pancreatectomy with en bloc resection of the celiac artery for carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Int J Pancreatol* 1997;22:15-21.
24. Ozaki H, Kinoshita T, Kosuge T, et al. An aggressive therapeutic approach to carcinoma of the body and tail of the pancreas. *Cancer* 1996;77:2240-5.
25. Wu YL, Yan HC, Chen LR, et al. Extended Appleby's operation for pancreatic cancer involving celiac axis. *J Surg Oncol* 2007;96:442-6.
26. Amano H, Miura F, Toyota N, et al. Is pancreatectomy with arterial reconstruction a safe and useful procedure for locally advanced pancreatic cancer? *J Hepatobiliary Pancreat Surg* 2009;16:850-7.
27. Sperti C, Berselli M, Pedrazzoli S. Distal pancreatectomy for body-tail pancreatic cancer: is there a role for celiac axis resection? *Pancreatol* 2010;10:491-8.
28. Bockhorn M, Burdelski C, Bogoevski D, et al. Arterial en bloc resection for pancreatic carcinoma. *Br J Surg* 2011;98:86-92.
29. Bachellier P, Rosso E, Lucescu I, et al. Is the need for an arterial resection a contraindication to pancreatic resection for locally advanced pancreatic adenocarcinoma? A case-matched controlled study. *J Surg Oncol* 2011;103:75-84.
30. Katz MH, Pisters PW, Evans DB, et al. Borderline resectable pancreatic cancer: the importance of this emerging stage of disease. *J Am Coll Surg* 2008;206:833-6.
31. Varadhachary GR, Tamm EP, Abbruzzese JL, et al. Borderline resectable pancreatic cancer: definitions, management, and role of preoperative therapy. *Ann Surg Oncol* 2006;13:1035-46.

膵・胆道癌薬物療法：臨床試験を読む！—最新の動向と実地診療へのインパクト—

切除不能膵癌に対するペプチドワクチン PEGASUS-PC 試験

谷 眞至¹⁾・山上 裕機¹⁾

要約：膵癌は唯一切除が治癒の可能性を有する治療法であるが、いまだに切除不能症例が切除可能症例を上回り、その予後は不良である。ペプチドワクチンは直接癌細胞を傷害しないが、リンパ球などの効果細胞を介して標的とする機序が明らかになっていることから、理論的根拠に基づいたペプチドワクチン療法の開発が可能となった。腫瘍細胞の HLA class-I 減弱が腫瘍の逃避機構となることから、ゲムシタピン塩酸塩と VEGFR2 に対するペプチドであるエルパモチド併用の臨床試験である PEGASUS-PC 試験が行われた。主要評価項目である全生存期間では残念ながら有意差を認めなかったが、一部の症例で有効性が認められたことから、今後、新しいペプチドの同定ならびにワクチンアジュバントなどの開発など、解決しなければならない問題が明らかとなり、さらなる治験などの臨床試験の推進が必要である。

Key words：ペプチドワクチン, PEGASUS-PC, VEGF, 膵癌

はじめに

膵癌はいまだに切除不能症例が切除可能症例を上回り、その予後は不良である¹⁾。また、切除可能例においても高率に再発をきたし、術後の治療が重要となっている。ゲムシタピン塩酸塩は 5-FU との比較試験において膵癌化学療法における標準治療となったが²⁾、さらなる治療成績の向上を探索する目的で多くの薬剤との比較試験ならびにゲムシタピン塩酸塩との併用が試みられた。上皮成長因子受容体 (epidermal growth factor receptor: EGFR) に対する分子標的治療薬であるエルロチニブが、ゲムシタピン塩酸塩単剤と比較して生存において優越性を示した³⁾。しかし、その生存期間中央値は併用群 6.2ヵ月、ゲムシタピン塩酸塩単独群 5.9ヵ月³⁾とわずかであり、副作用や費用対効果を考えると新たな標準治療との結論には至らないのが現状である。また、FOLFIRINOX 療法が無作為化比較試験でゲムシタピン塩酸塩に対し有意に生存期間を延

長することが報告された⁴⁾。FOLFIRINOX 療法はゲムシタピン塩酸塩を含まない regimen であり、その効果に期待がもたれるが、日本人に対する feasibility の検証結果、とくに好中球減少などの有害事象の検討が待たれるところである。さらに、2013 年の ASCO-GI にて nab-Paclitaxel とゲムシタピン塩酸塩との併用療法のゲムシタピン塩酸塩単剤に対する優越性が報告され (MPACT 試験)⁵⁾、今後の膵癌化学療法への期待が持たれる。しかし、昨今の膵癌化学療法の進歩と比較してもわかるように、膵癌においては使用可能な薬剤が少ないことが問題である。一方、免疫療法は、抗腫瘍剤や癌細胞に特有あるいは過剰に発現している特定の分子の機能を抑える分子標的治療薬とは異なり、副作用が少ないことや殺細胞機序が全く異なることなどの観点から開発が望まれている治療法である。ペプチドワクチンは直接癌細胞を傷害するのではなく、リンパ球などの効果細胞を介してはいるものの標的とする機序が明らかになっていることから、理論的根拠に基づいたペプチドワクチン療法の開発が可能となり、治験を含む臨床試験が行われている。

PEGASUS-PC Study for Unresectable Pancreatic Cancer

Masaji Tani et al

1) 和歌山県立医科大学第 2 外科 (〒 641-8510 和歌山市紀三井寺 811-1)

I. ペプチドワクチンの作用機序

主要組織適合性複合体 (major histocompatibility

complex:MHC)に結合し、細胞傷害性T細胞(cytotoxic T lymphocyte:CTL)が認識できる腫瘍抗原ペプチドが報告され⁶⁾、それまでは漠然としていた腫瘍抗原が明らかとなり、理論的根拠に立脚した腫瘍抗原を標的とした癌ワクチン療法が考案されることになった。標的となる腫瘍細胞に特異的に発現している内因性抗原である腫瘍関連抗原は樹状細胞に取り込まれ、プロテアソームによるプロセッシング作用を受けてペプチド断片となり、主要組織適合抗原(MHC,ヒトではHLA)クラスI分子の $\alpha 1$, $\alpha 2$ ドメインに結合し、ゴルジ体を介して細胞表面へ表出し、MHC(HLA)-ペプチド複合体によりペプチドがCD8陽性T細胞に提示され、CD8陽性T細胞を活性化することにより抗原特異的なCTLが誘導される。ペプチドワクチン療法では腫瘍特異的CTLを誘導しうるペプチドを同定し、癌患者に投与することで、樹状細胞に取り込まれ、上述の作用機序により腫瘍特異的CTLが誘導される。CTLによる細胞傷害活性を基盤とした癌免疫療法はその作用機序が化学療法とは全く異なることから、有害事象の軽減や有効性が期待される。しかし、肺癌を含めた固形腫瘍には期待されたような臨床効果はみられなかった⁷⁾。その原因として癌細胞の免疫逃避機構の存在が示唆される。

II. 免疫逃避機構

化学発癌モデルやウイルス発癌モデルとは異なり、自然発癌において腫瘍細胞は宿主免疫監視機構をすり抜け発育している。免疫原性の強い抗原ペプチドを発現する腫瘍細胞は発生段階で排除されていると考えられるが、ある一定以上の腫瘍細胞量にまで成長した腫瘍細胞はヘテロな集団であり、さまざまな免疫逃避機構が推測される^{8,9)}。腫瘍細胞は遺伝子変異を起こしやすく腫瘍関連抗原の発現も不安定であり、CTLが認識できない細胞が存在する。腫瘍抗原だけでなくHLA class Iの発現が低下するため、HLA-ペプチド複合体が形成されず、CTLが腫瘍細胞を認識できない。このHLA class Iの発現が低下する現象は多くの癌腫で報告されており^{10~12)}、肺癌でも同様の報告がされている⁹⁾。また、HLA class I発現の低下・消失は患者生存率が低下し、再発も多いことが他の癌腫で報告されている^{13,14)}。さらに癌微小環境における免疫抑制因子の存在が危惧される。腫瘍細胞や周囲の間質細胞から産生されるIL-10に代表される免疫抑制性サイトカインやTGF- β ¹⁵⁾、制御性T細胞により¹⁶⁾、CTLは免疫抑制状態となる。

III. 腫瘍新生血管を標的とした癌ワクチン療法

VEGF-Aはほとんどの腫瘍で発現が上昇しており、VEGFR-1およびVEGFR-2の二つのレセプター型チロシンキナーゼと結合する¹⁷⁾。VEGFR-1およびVEGFR-2を介したシグナル伝達を遮断することで、血管新生の阻害や癌細胞の増殖、転移を抑制することが期待できる¹⁸⁾。また、VEGFR-2はVEGFR-1よりVEGF-Aによる血管内非細胞の増殖や血管透過性などの主要なシグナル伝達を強く担うレセプターであり、VEGFR-2のシグナル伝達を遮断することは腫瘍新生血管の阻害ならびに腫瘍細胞の浸潤・転移を抑制できる可能性を示唆している。当科で施行した医師主導型第I相臨床試験で用いたペプチドはVEGFR-2由来エピトープペプチド(VEGFR2-169, Elpamotide, エルパモチド)であり、VEGFR-2を特異的に認識し、最も強い腫瘍新生血管を傷害するCTLを誘導することができる¹⁹⁾。また、癌患者からも特異的CTLが誘導できることが明らかになっている。VEGFR-1由来ペプチドも同定されており、ペプチドをパルスした細胞に対し細胞傷害活性を有することが確認され、VEGFR-1を内因性に発現した細胞においても特異的活性化CTLの誘導が確認できている²⁰⁾。免疫逃避機構を克服するには、癌細胞自体を標的にするのではなく癌細胞の増殖や転移に必須で^{21,22)}、かつHLA class I発現が安定している腫瘍新生血管を標的とする新しい発想での免疫療法を施行することとした。

IV. 抗癌剤が免疫療法に及ぼす影響

抗癌剤は血液毒性を有する薬剤であり、抗癌剤治療による宿主免疫能低下により化学療法と免疫療法が相反する作用を示すことが危惧される。しかし、われわれは以前にも腫瘍浸潤Tリンパ球がシスプラチンにより抗腫瘍効果が増強することを確認しており^{23,24)}、ゲムシタピン塩酸塩においても抗腫瘍免疫を阻害しないことが報告されている^{25,26)}。

V. 当科で行った第I相臨床試験

HLA-A-*2402を有する切除不能肺癌患者を対象に医師主導型第I相臨床試験、「切除不能進行再発肺癌に対する腫瘍新生血管を標的としたHLA-A*2402拘束性エピトープペプチドとgemcitabine併用による第I相臨床試験」(ClinicalTrials.gov ID:NCT00622622)

表 1 免疫応答と臨床効果

	ペプチド投与量 (mg)		
	0.5 (n=6)	1.0 (n=6)	2.0 (n=6)
局所皮膚反応 (+/-)	5	4	6
CTL 反応 (+/-)	3	4	4
臨床効果			
PR/SD/PD	0/4/2	0/4/2	1/3/2
全生存期間 (日)	233	207	344

文献 27 から改変

を施行した。種々の理由から drop out した 3 名を除き、評価対象患者は 18 名で主要評価項目は安全性とした。注射部位反応や CTL 反応解析などの免疫反応、臨床的効果を副次的評価項目とし推奨投与量を決定することとした。VEGFR2-169 を 0.5 mg, 1.0 mg, 2.0 mg の各コホート 6 名とし、週 1 回の投与とした。ゲムシタピン塩酸塩は 1,000 mg/m²とし、通常投与と同じ 3 週投薬 1 週休薬とした。免疫学的解析では VEGFR2-169 特異的 CTL が 11 例 (61%) で誘導され、注射部位反応も 15 例 (83%) に認められた (表 1)。副作用は許容範囲内であり、投与量を規定する毒性は認めなかった。臨床的効果はペプチド投与部位の局所皮膚反応が陽性であった症例 15 例のうち 12 例 (80%) が partial response または stable disease であったが、陰性であった症例 3 例すべて progress disease であった (表 2)。さらに 2 mg 投与群の生存期間が最も長かった (表 1)。以上の結果から推奨投与量は 2 mg/body とした²⁷⁾。

この医師主導型第 I 相臨床試験の結果から、第 II/III 相臨床試験 (PEGASUS-PC 試験) へと発展した。通常は第 I 相臨床試験で安全性や推奨投与量が確認できても、企業主導の第 I 相臨床試験からやり直す必要があり、時間や費用、貴重な症例の無駄遣いととも、創薬までのタイムロスに繋がっていたが、高水準の医師主導型臨床試験を行うことで、pivotal に企業主導臨床試験へと進むことが可能であることが証明され、今後の治験のあり方や創薬において一歩前進がみられたことは非常に評価できる。

VI. PEGASUS-PC 試験の概要

腫瘍新生血管に関わる因子の一つである Vascular Endothelial Growth Factor Receptor 2 (VEGFR2) 由来のエピトープペプチド (エルパモチド) を用いた第 II/III 相臨床試験 (PEGASUS-PC 試験) を行った。PEGASUS-PC Study は切除不能進行膵臓癌または再

表 2 局所皮膚反応と臨床効果

	局所皮膚反応	
	陽性	陰性
PR+SD	12	0
PD	3	3

文献 27 から改変

発膵臓癌と診断された 153 名の膵臓癌患者を対象に、エルパモチドとゲムシタピン塩酸塩併用投与群 (実薬群) の安全性および有効性を確認する目的で、プラセボ群と実薬群を 1:2 に割り付けで、プラセボ群を対照として行った多施設共同の二重盲検比較試験を施行した臨床治験である。本試験は膵臓癌に対する世界初のエピトープペプチドによる治験というだけでなく、統計解析に関しても免疫療法の特性を加味した今までにない斬新なものであった。すなわち、通常、抗癌剤の治験ではイベント発生に関するハザード比が一定であるため、Log-rank 法が広く一般的に用いられる。しかし、ペプチドを用いた免疫療法では効果発現までのタイムラグが生じる、すなわち、delayed separation of the curve と呼ばれる現象がみられ、イベント発生に関するハザード比も時間とともに変化するため、Fleming-Harrington 法という統計検定手法が用いられたことは、今後の他の創薬においても非常に意義のあることである。153 例に投与がなされた。実薬群とプラセボ群の各群で副作用に大きな違いは認められなかったことから、エルパモチドは膵臓癌患者に対し、安全性に問題なく投与が可能であった。主要評価項目である全生存期間では、実薬群とプラセボ群で統計学的有意差は認められなかった。しかし、注射部位反応によるサブグループ解析を行ったところ、強い皮膚反応 (潰瘍) が認められた患者については、生存期間が延長している傾向があることが明らかになった。注射部位の潰瘍は実薬群においてのみ認められた事象であり、エルパモチドにより誘導された VEGFR2 特異的 CTL により引き起こされた特異的な事象と考えられた。さらに、潰瘍を含めたその他の注射部位反応の有無と生存期間の相関を検討したところ、強い関連が認められ、サロゲートマーカーとなりうる可能性が示唆された。全症例では生存期間の延長は認められなかったが、エルパモチド単剤では統計学的に有意な生存期間の延長は認められなかったものの、一部の患者に対しては生存期間を延長できる可能性があることが明らかになった。

VII. 今後の課題

PEGASUS-PC 試験では全症例においては生存期間の延長効果はなかったものの、実薬群には responder が存在することも明らかとなった。今後の課題として、複数のペプチドワクチンによる治療があげられる。Stage III 大腸癌では RNF43 と TOMM34 由来の HLA-A24 拘束性ペプチドと経口抗癌剤である UFT/LV を投与したところ、RNF43 と TOMM34 の双方に対する CTL 反応陽性群の生存期間中央値が 36.1 ヶ月であるのに対し、CTL 反応陰性群の生存期間中央値は 9.5 ヶ月と短かった ($p=0.0079$)²⁸⁾。標準治療不応進行食道癌では TTK, LY6K, IMP3 由来の HLA-A24 拘束性ペプチドを投与したところ、三つの抗原に対する CTL 陰性群に比較して、陽性抗原数が増えるにつれ生存期間が延長し、TTK, LY6K, IMP3 の 3 抗原すべてに反応を示した群のみに 1 年以上の長期生存例がみられた²⁹⁾。

また、ペプチドの反応性を向上するための adjuvant の開発も重要である。例えば CpG-ODN は TLR-9 agonist であるが、CpG は樹状細胞の活性化を介して大量の type-1 インターフェロン産生を誘導し、自然免疫とともに獲得免疫を活性化することでペプチドワクチンの効果増強が得られる可能性が報告された³⁰⁾。さらに、LY6K および TTK 由来のペプチドワクチン療法に CpG-B を併用する第 I 相臨床試験において、CpG-ODN の癌ワクチンにおけるアジュバントとしての有用であった³¹⁾。しかし、リンパ腫に対する CpG 腫瘍内投与は有効性を示した³²⁾が、肺癌に対する CpG の全身投与では標準化学療法に対する上乗せ効果を認めなかった³³⁾。Drug delivery system の発展に伴い、新規 adjuvant の開発が待たれる。

おわりに

免疫療法薬の効果は実感し難いことがあるが、悪性黒色腫では放射線非照射部位の腫瘍が ipilimumab 投与により縮小し続ける abscopal effect が認められ、末梢血の免疫担当細胞の phenotype の変化や抗体に対する反応性の変化も同時に認められた³⁴⁾。有効なペプチドワクチンの同定だけでなく、免疫モニタリングとして ELISPOT assay などが広く行われているが、今後とも quality assessment や quality control が必要である。また、T 細胞反応、Treg・myeloid-derived suppressor 細胞・NK 細胞・樹状細胞の解析、腫瘍関連抗

原に対する抗体などが検討されているが³⁵⁾、免疫療法において有効性を示唆する biomarker のさらなる開発が必要である。

免疫療法治療薬としては、sipuleucel-T (Provenge) が前立腺癌に、ipilimumab が悪性黒色腫に³⁶⁾、有効な免疫療法薬として FDA に認可されたが³⁷⁾、肺癌に対するペプチドワクチンの分野では承認されたものはいまだないのが現状であり、ペプチドワクチン療法剤が開発されるよう治験などの臨床試験の推進が必要である。

参考文献

- 1) 日本膵臓学会：膵癌登録報告 2007. 膵臓 22 : e1-e429, 2007.
- 2) Burris HA, 3rd, Moore MJ, Andersen J, et al. : Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer : a randomized trial. J Clin Oncol 15 : 2403-2413, 1997.
- 3) Moore MJ, Goldstein D, Hamm J, et al. : Erlotinib plus gemcitabine compared with gemcitabine alone in patients with advanced pancreatic cancer : a phase III trial of the National Cancer Institute of Canada Clinical Trials Group. J Clin Oncol 25 : 1960-1966, 2007.
- 4) Vaccaro V, Sperduti I, Milella M : FOLFIRINOX versus gemcitabine for metastatic pancreatic cancer. N Engl J Med 365 : 768-769 ; author reply 769, 2011.
- 5) von Hoff D, Ervin T, Arena F, et al. : Randomized phase III study of weekly nab-paclitaxel plus gemcitabine vs. gemcitabine alone in patients with metastatic adenocarcinoma of the pancreas (MPACT). Presented at : 2013 Gastrointestinal Cancers Symposium ; January 24-26, 2013 ; San Francisco, CA. J Clin Oncol 30 : abstr LBA148, 2012.
- 6) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al. : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. Science 254 : 1643-1647, 1991.
- 7) Rosenberg SA, Yang JC, Restifo NP : Cancer immunotherapy : moving beyond current vaccines. Nat Med 10 : 909-915, 2004.
- 8) Khong HT, Restifo NP : Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. Nat Immunol 3 : 999-1005, 2002.
- 9) Ryschich E, Notzel T, Hinz U, et al. : Control of T-cell-mediated immune response by HLA class I in human pancreatic carcinoma. Clin Cancer Res 11 : 498-504, 2005.
- 10) Marincola FM, Jaffee EM, Hicklin DJ, et al. : Escape of human solid tumors from T-cell recognition : molecular mechanisms and functional significance. Adv Immunol 74 : 181-273, 2000.
- 11) Garrido F, Algarra I, Garcia-Lora AM : The escape of

- cancer from T lymphocytes : immunoselection of MHC class I loss variants harboring structural-irreversible "hard" lesions. *Cancer Immunol Immunother* 59 : 1601-1606, 2010.
- 12) Ishigami S, Natsugoe S, Nakajo A, et al. : HLA-class I expression in gastric cancer. *J Surg Oncol* 97 : 605-608, 2008.
 - 13) Tsukahara T, Kawaguchi S, Torigoe T, et al. : Prognostic significance of HLA class I expression in osteosarcoma defined by anti-pan HLA class I monoclonal antibody, EMR8-5. *Cancer Sci* 97 : 1374-1380, 2006.
 - 14) Kitamura H, Torigoe T, Asanuma H, et al. : Down-regulation of HLA class I antigens in prostate cancer tissues and up-regulation by histone deacetylase inhibition. *J Urol* 178 : 692-696, 2007.
 - 15) Teicher BA : Transforming growth factor-beta and the immune response to malignant disease. *Clin Cancer Res* 13 : 6247-6251, 2007.
 - 16) Ichihara F, Kono K, Takahashi A, et al. : Increased populations of regulatory T cells in peripheral blood and tumor-infiltrating lymphocytes in patients with gastric and esophageal cancers. *Clin Cancer Res* 9 : 4404-4408, 2003.
 - 17) Folkman J : Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nat Med* 1 : 27-31, 1995.
 - 18) Li Y, Wang MN, Li H, et al. : Active immunization against the vascular endothelial growth factor receptor flk1 inhibits tumor angiogenesis and metastasis. *J Exp Med* 195 : 1575-1584, 2002.
 - 19) Wada S, Tsunoda T, Baba T, et al. : Rationale for antiangiogenic cancer therapy with vaccination using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 2. *Cancer Res* 65 : 4939-4946, 2005.
 - 20) Ishizaki H, Tsunoda T, Wada S, et al. : Inhibition of tumor growth with antiangiogenic cancer vaccine using epitope peptides derived from human vascular endothelial growth factor receptor 1. *Clin Cancer Res* 12 : 5841-5849, 2006.
 - 21) Itakura J, Ishiwata T, Friess H, et al. : Enhanced expression of vascular endothelial growth factor in human pancreatic cancer correlates with local disease progression. *Clin Cancer Res* 3 : 1309-1316, 1997.
 - 22) Seo Y, Baba H, Fukuda T, et al. : High expression of vascular endothelial growth factor is associated with liver metastasis and a poor prognosis for patients with ductal pancreatic adenocarcinoma. *Cancer* 88 : 2239-2245, 2000.
 - 23) Noguchi K, Tanimura H, Yamaue H, et al. : Cisplatin modulates tumor cell susceptibility to tumor-infiltrating lymphocytes in vivo. *Oncol Rep* 4 : 927-930, 1997.
 - 24) Noguchi K, Tanimura H, Yamaue H, et al. : Enhancement of tumor cell susceptibility to tumor-infiltrating lymphocytes by cisplatin. *J Cancer Res Clin Oncol* 123 : 345-351, 1997.
 - 25) Suzuki E, Kapoor V, Jassar AS, et al. : Gemcitabine selectively eliminates splenic Gr-1+ / CD11b+ myeloid suppressor cells in tumor-bearing animals and enhances antitumor immune activity. *Clin Cancer Res* 11 : 6713-6721, 2005.
 - 26) Plate JM, Plate AE, Shott S, et al. : Effect of gemcitabine on immune cells in subjects with adenocarcinoma of the pancreas. *Cancer Immunol Immunother* 54 : 915-925, 2005.
 - 27) Miyazawa M, Ohsawa R, Tsunoda T, et al. : Phase I clinical trial using peptide vaccine for human vascular endothelial growth factor receptor 2 in combination with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer. *Cancer Sci* 101 : 433-439, 2010.
 - 28) Okuno K, Sugiura F, Hida J, et al. : [Preliminary study of Peptide vaccine with UFT/LV as adjuvant setting for stage III colorectal cancer]. *Gan To Kagaku Ryoho* 38 : 1906-1908, 2011.
 - 29) Kono K, Iinuma H, Akutsu Y, et al. : Multicenter, phase II clinical trial of cancer vaccination for advanced esophageal cancer with three peptides derived from novel cancer-testis antigens. *J Transl Med* 10 : 141, 2012.
 - 30) Katsuda M, Iwahashi M, Matsuda K, et al. : Comparison of different classes of CpG-ODN in augmenting the generation of human epitope peptide-specific CTLs. *Int J Oncol* 39 : 1295-1302, 2011.
 - 31) Iwahashi M, Katsuda M, Nakamori M, et al. : Vaccination with peptides derived from cancer-testis antigens in combination with CpG-7909 elicits strong specific CD8+ T cell response in patients with metastatic esophageal squamous cell carcinoma. *Cancer Sci* 101 : 2510-2517, 2010.
 - 32) Brody JD, Ai WZ, Czerwinski DK, et al. : In situ vaccination with a TLR9 agonist induces systemic lymphoma regression : a phase I/II study. *J Clin Oncol* 28 : 4324-4332, 2010.
 - 33) Manegold C, van Zandwijk N, Szczesna A, et al. : A phase III randomized study of gemcitabine and cisplatin with or without PF-3512676 (TLR9 agonist) as first-line treatment of advanced non-small-cell lung cancer. *Ann Oncol* 23 : 72-77, 2012.
 - 34) Postow MA, Callahan MK, Barker CA, et al. : Immunologic correlates of the abscopal effect in a patient with melanoma. *N Engl J Med* 366 : 925-931, 2012.
 - 35) Butterfield LH, Palucka AK, Britten CM, et al. : Recommendations from the iSBTc-SITC/FDA/NCI Workshop on Immunotherapy Biomarkers. *Clin Cancer Res* 17 : 3064-3076, 2011.
 - 36) Robert C, Thomas L, Bondarenko I, et al. : Ipilimumab plus dacarbazine for previously untreated metastatic melanoma. *N Engl J Med* 364 : 2517-2526, 2011.
 - 37) Kantoff PW, Higano CS, Shore ND, et al. : Sipuleucel-T immunotherapy for castration-resistant prostate cancer. *N Engl J Med* 363 : 411-422, 2010.

10. 治療法

9) ワクチン療法

はじめに

膀胱がんに対する治療法として確立されているものは、外科療法、化学療法、放射線療法があり、これらを膀胱がんの状態に応じて適切に組み合わせる集学的治療が、膀胱がんの予後向上には重要です。以前より、第4の治療法として期待を集めているのが「免疫療法」です。免疫療法は身体にやさしい治療法として注目を浴びていますが、真の有効性を評価した研究は少なく、まだまだ解決しなければならない問題が山積しています。

免疫とは

生体には、恒常性を保つためのさまざまな機能が備わっています。免疫系は、生体内に侵入した細菌やウイルスなどの病原体や、がん細胞を認識して破壊することにより、生体を病気から保護するための非常に複雑な多数の機構が集積した一大機構です。とくにがんに対する腫瘍免疫では「自己」と「非自己」を認識し、「非自己」である異物を除去する能力が必要となります。

人体を構成する細胞にはさまざまなものがありますが、免疫を担当しているのはリンパ球、樹状細胞、マクロファージ、ナチュラルキラー（NK）細胞、好中球等の細胞です。

がん細胞を直接攻撃するために重要なのはリンパ球ですが、リンパ球はT細胞とB細胞に大別されます。T細胞は、さらに2種類に大別できます。1つは、ウイルスに感染した細胞やがん細胞を殺傷する能力（細胞傷害能）を有するキラーT細胞です。もう1つは、種々のサイトカインを産生してB細胞の抗体産生の活性化と、他のT細胞を活性化させる働きを持つヘルパーT細胞です。もう一方のB細胞は、抗原に対して特異的に結合することのできる抗体を産生します。樹状細胞は、抗原提示細胞として機能する免疫細胞の一種であり、樹状細胞が貪食した抗原を、他の免

疫系の細胞に伝える役割を持っています。

このように多くの種類の細胞ががん免疫には関与しており、さまざまな種類の免疫療法があり得ることが理解できます。

リンパ球のがん細胞認識機構

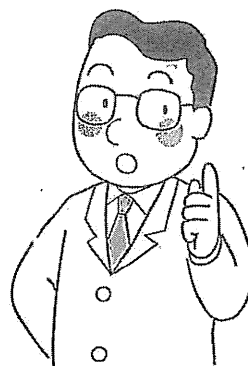
がん免疫において、主役的な役割を果たしているT細胞ががん細胞を認識するには、がん抗原をT細胞に提示する機能を持った、抗原提示細胞と呼ばれる細胞が必要です。この抗原提示細胞の表面には、主要組織適合抗原 (major histocompatibility complex : MHC) が存在します。

ヒトの場合は、これをとくにヒト白血球抗原 (human leukocyte antigen : HLA) と呼び、大きく分けてクラスⅠ (HLA-A, B, C) とクラスⅡ (HLA-DR, DP, DQ) があります。いわば白血球の血液型に相当するもので、両親からそれぞれ1つずつのHLA抗原を受け継いでいます。ヒト白血球抗原 (HLA) が異なれば拒絶反応が起こり、臓器移植においては移植された臓器の生着率に影響します。

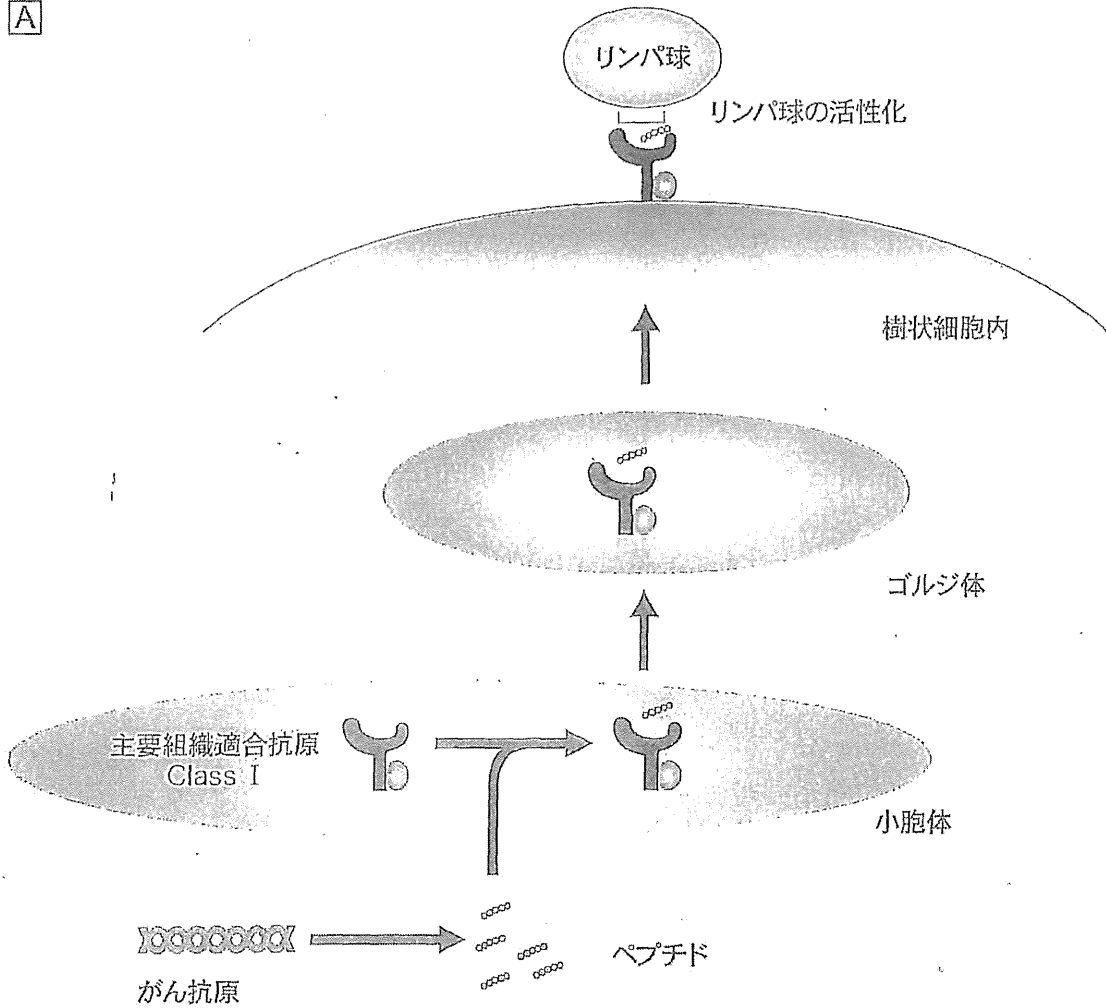
標的となるがん細胞に特異的に発現している内因性抗原であるがん抗原は、樹状細胞に取り込まれ、プロテアソームという物質により分解され、アミノ酸が複数個連なったペプチド断片となります。このペプチドは細胞内の小胞体内で主要組織適合抗原 Class I 分子に結合し、ゴルジ体を介して細胞表面へ表出します。表出したMHC (HLA) Class I - ペプチド複合体によりペプチドがCD8陽性T細胞に提示され、このCD8陽性T細胞を活性化することにより、初めてがん特異的なCTL (cytotoxic T lymphocyte : 細胞傷害性T細胞) が誘導されます (図A)。

また、HLAクラスⅡに結合したペプチドはCD4陽性T細胞に提示され、ヘルパーT細胞を活性化させます。抗原提示細胞としては、マクロファージ、B細胞、あるいは樹状細胞がありますが、そのなかでもとくに樹状細胞は、最も強い抗原提示機能を持っています。

抗原提示細胞としては、マクロファージ、B細胞、あるいは樹状細胞がありますが、そのなかでもとくに樹状細胞は、最も強い抗原提示機能を持っています。



A



がん抗原の樹状細胞内での抗原提示機構

標的となるがん細胞に特異的に発現している内因性抗原であるがん関連抗原は、樹状細胞に取り込まれ、分解を受けてアミノ酸が複数個連なったペプチド断片となります。このペプチドは細胞内の小胞体内に運ばれ、主要組織適合抗原 Class I 分子に結合し、ゴルジ体を介して細胞表面へ表出します。通常 9～10 個のアミノ酸からなるペプチドが主要組織適合抗原 Class I 分子に結合します。表出した MHC (HLA) Class I-ペプチド複合体により、ペプチドが CD8 陽性 T 細胞に提示され、この CD8 陽性 T 細胞を活性化することにより、がん特異的な CTL が誘導されます。

(筆者ら作成)

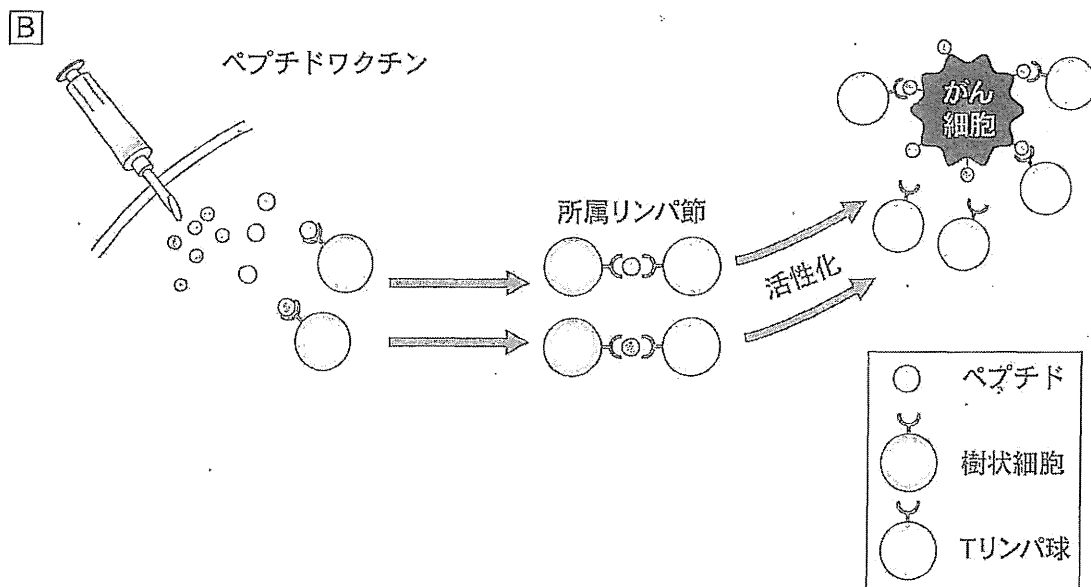
ペプチドワクチン療法

リンパ球ががん細胞を認識するためのがん抗原そのものを、直接同定することは困難でした。しかし、1991年にベルギーの Ludwig 癌研究所の Boon 博士らにより、悪性黒色腫細胞に発現する抗原 (MAGE と呼ばれる抗原) の遺伝子が初めて同定されました。さらに 1994年には、米国国立衛生研究所 (National Institutes of Health : NIH) の Rosenberg 博士らが、腫瘍抗原の遺伝子を悪性黒色腫から同定し (MART-1,

gp100と呼ばれるもの), それ以降, 多くの遺伝子が同定されています。見つかった抗原には, 主要組織適合抗原クラス I に提示されるペプチドエピトープが同定されているものもあり, ペプチドの刺激によって, 生体内で腫瘍細胞を傷害するリンパ球(キラー細胞)を誘導できることも報告されています。

ペプチドワクチン療法では, 一般的に9~10個のアミノ酸からなる人工的に合成したペプチドを用います。がんペプチドワクチンは, がん細胞に特有のペプチドを患者さんに注射し, 患者さん自身の持っている免疫の力を高めて, がんの増大を抑えることを目指して開発されています。すなわち, ペプチドによって活性化された, ペプチドに特異的なリンパ球などの免疫細胞がそれを敵と認識して働き始め, がん細胞を攻撃し排除するだろう, というのが, ペプチドワクチンの基本的な考え方です(図B)。したがって, がんワクチンには, がん細胞に多く発現するが正常細胞には発現していない, もしくは発現が極めて少ない抗原に対するアミノ酸配列を化学的に合成したペプチドを用います。

このようなペプチドにより賦活化されたリンパ球の一種である細胞傷害性T細胞(CTL)は, その抗原を持つがん細胞だけを攻撃し, 正常細胞は傷害しないことから, ペプチドワクチンが, 副作用の少ないがんの治療法として期待されています。



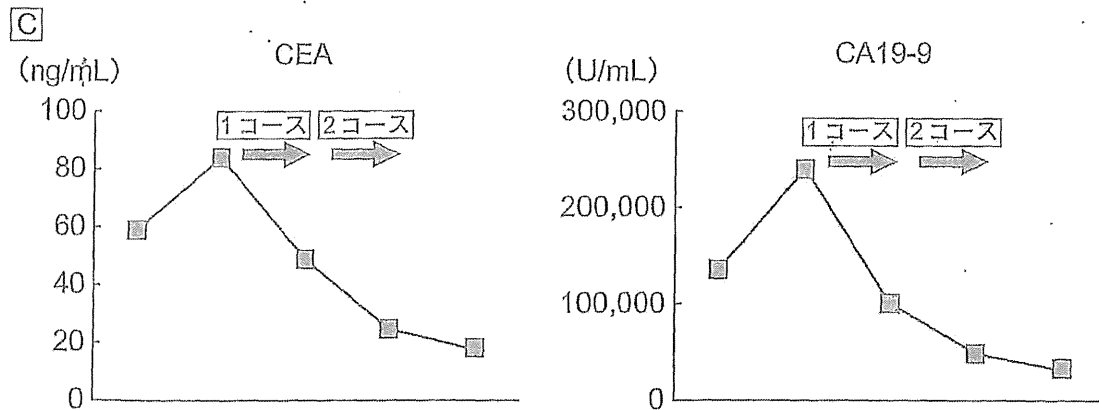
ペプチドワクチンによるTリンパ球の活性化

皮下に投与された合成ペプチドは皮膚・皮下の樹状細胞に取り込まれ, 所属リンパ節内でTリンパ球の活性化を行います。活性化されたCD8陽性T細胞は, キラー細胞としてがん細胞を攻撃します。

(筆者ら作成)

当施設でのペプチドワクチン療法

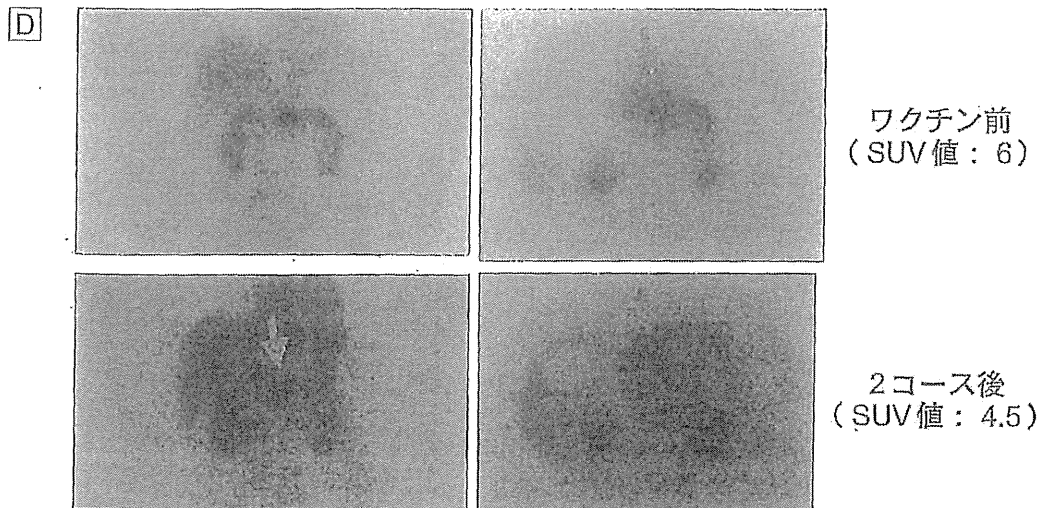
和歌山県立医科大学では、以前から免疫療法の臨床応用に関する研究をしてきました。膵がんに対しては、血管内皮細胞増殖因子(vascular endothelial growth factor : VEGF) の受容体に対するペプチドワクチンを用いて、安全性を検証する第 I 相臨床試験を行い、血管内皮細胞増殖因子 2 型受容体に対するペプチドワクチンの至適投与量を明らかにするとともに、私たちのデータを基に速やかに大規模治験へと移行することができました。



腫瘍マーカーの推移

ゲムシタビン塩酸塩とペプチドワクチンを併用する免疫化学療法を切除不能進行膵がん に投与したところ、腫瘍マーカーである CEA、CA19-9 ともに速やかに減少しました。

(筆者ら作成)

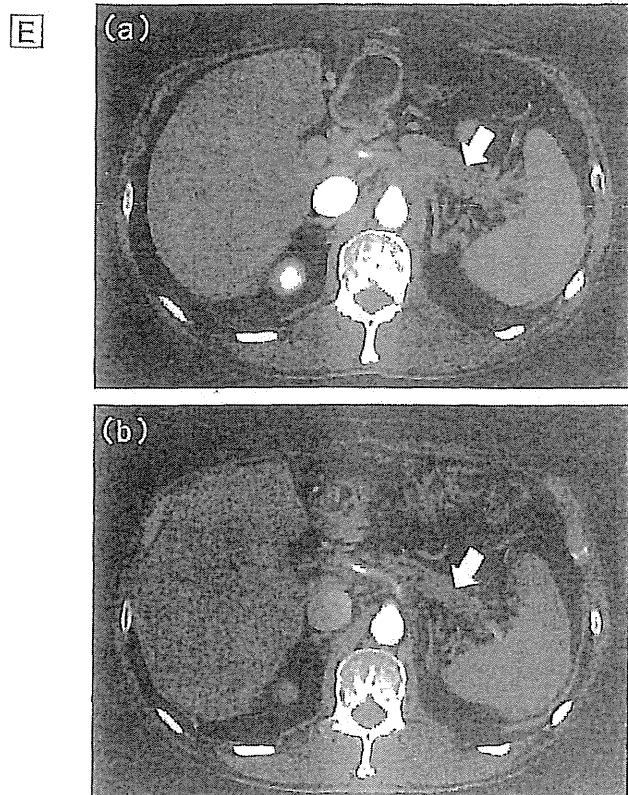


PET 検査の推移

ゲムシタビン塩酸塩とペプチドワクチンを併用する免疫化学療法を切除不能進行膵がん に投与したところ、PET 検査の集積が SUV 値 6 から 4.5 へと減少を認めました。

(筆者ら提供)

その臨床試験での代表的な症例を提示しますが、ペプチドワクチンと抗がん剤のゲムシタビン塩酸塩を併用することで、腫瘍マーカーが低下した症例や、ポジトロン断層撮影(PET)での改善がみられた症例、長期に縮小がみられた症例などを経験しました(図C~E)。



現在は、ゲムシタビン塩酸塩が効かなくなった方に対するペプチドワクチン療法の治験と、膵がん切除後の再発予防に対するペプチドワクチン療法の治験が進行中ですが、治験ということで限られた方のみに参加いただけます。

長期間有効症例

膵体尾部がん(a:矢印)は、ゲムシタビン塩酸塩とペプチドワクチンを併用する免疫化学療法により、治療開始7カ月後も45%に縮小したままであり(b:矢印)、元気に日常生活を過ごすことができました。

(筆者ら提供)

今後の展望

現在、より強力な抗腫瘍効果・生存期間の延長のためには、単独のペプチドより複数のペプチドを投与するカクテルワクチンが有利であることが、次第はわかってきました。がんペプチドワクチン療法は副作用の少ない治療法ですが、治験などの高水準の臨床試験を経ることで初めて薬として認められ、日本中どこの病院でも、誰でも治療を受けることが可能となります。まだ、膵がんを対象としたペプチドワクチンで薬剤として認可されたものはなく、治験などの高水準の臨床試験が行われているところです。米国では、前立腺がんに対するProvengeや悪性黒色腫に対するipilimumabが免疫療法薬として承認され、実際に使用されていますが、難治性がんである膵がんに対する新たな希望として、ペプチドワクチンの1日も早い創薬を急ぐ必要があると考えます。

(谷 眞至, 山上 裕機)

EMTを促進していることも想定されている(図VI-45)。

最近、遺伝子改変膵癌マウスの発癌過程において、マウスのPanIN(mPanIN)細胞にEMTが生じ、血流中にもそのEMT化したmPanIN細胞が検出されることが報告された⁹⁾。つまり、癌形成以前に転移過程が開始しているということである。一方、ヒトの膵癌転移巣と原発巣のゲノム解析から、膵の正常細胞が癌化するまで最低10年程度(平均11.7年)、転移能獲得にさらに5年以上(平均6.8年)という長い年月が必要であることが示されている¹⁰⁾。膵癌転移のメカニズムに関してはいまだ不明な点も多く、今後の研究によって明らかにされていくものと思われる。

◎文献

- 1) Hruban RH, Goggins M, Parsons J, et al : Progression model for pancreatic cancer. *Clin Cancer Res* 6 : 2969-2972, 2000
- 2) Hansel DE, Kern S, Hruban RH : Molecular pathogenesis of pancreatic cancer. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 4 : 237-256, 2003
- 3) Kanda M, Matthaei H, Wu J, et al : Presence of somatic mutations in most early-stage pancreatic intraepithelial neoplasia. *Gastroenterology* 142 : 730-733, 2012
- 4) Biankin AV, Waddell N, Kassahn KS, et al : Pancreatic cancer genomes reveal aberrations in axon guidance pathway genes. *Nature* 491 : 399-405, 2012
- 5) Yu J, Li A, Hong SM, et al : MicroRNA alternations of pancreatic intraepithelial neoplasms. *Clin Cancer Res* 18 : 981-992, 2011
- 6) Bachem MG, Schünemann M, Ramadani M, et al : Pancreatic carcinoma cells induce fibrosis by stimulating proliferation and matrix synthesis of stellate cells. *Gastroenterology* 128 : 907-921, 2005
- 7) Provenzano PP, Cuevas C, Chang AE, et al : Enzymatic targeting of the stroma ablates physical barriers to treatment of pancreatic ductal adenocarcinoma. *Cancer Cell* 21 : 418-429, 2012
- 8) Thiery JP : Epithelial-mesenchymal transitions in tumour progression. *Nat Rev Cancer* 2 : 442-454, 2002
- 9) Rhim AD, Mirek ET, Aiello NM, et al : EMT and dissemination precede pancreatic tumor formation. *Cell* 148 : 349-361, 2012
- 10) Yachida S, Jones S, Bozic I, et al : Distant metastasis occurs late during the genetic evolution of pancreatic cancer. *Nature* 467 : 1114-1117, 2010

(佐藤賢一)

トピックス

膵臓癌の癌ワクチン

近年、米国ではホルモン療法抵抗性前立腺癌の患者に対して樹状細胞ワクチンとして作用する sipuleucel-T が米国食品医薬品局(FDA)で承認され、その後、抗CTLA-4抗体である ipilimumab が転移性悪性黒色腫の患者に対して承認された。このように癌免疫関連の創薬化の動きが強まっている。難治癌である膵癌でも新規治療薬の開発は急務である。本項では膵癌に対する癌治療用ワクチンの動向について概説する。

▶ 癌ワクチン療法の原理

免疫には自然免疫と獲得免疫があり、抗腫瘍免疫応答においては特に後者は重要である。獲得免疫において中心的役割を果たすのはT細胞で、標的となる癌細胞を直接破壊するのは cytotoxic T lymphocyte (CTL) である。CTLの誘導には樹状細胞(DC)が深く関与しており、CTL発現のメカニズムの概要は次の通りである。

まず、標的となる腫瘍細胞に特異的に発現している内因性抗原である腫瘍関連抗原はDCに取り込まれ、プロテアソームによるプロセッシング作用を受けてペプチド断片となる。このペプチドは抗原プロセッシング関連トランスポーター(transporters associated with antigen processing : TAP)により小胞体内に運ばれ、主要組織適合抗原(MHC, ヒトではHLA) Class I分子に結合し、ゴルジ体を介して細胞表面へ表出する。表出したMHC(HLA) Class I-ペプチド複合体によりペプチドがCD8陽性T細胞に提示され、CD8陽性T細胞を活性化することにより抗原特異的なCTLが誘導される。

▶ 膵癌に対する主な開発中の治療用ワクチン

1) ペプチドワクチン

ペプチドワクチン療法では腫瘍特異的CTLを

誘導しうるペプチド(9-10merのアミノ酸)を腫瘍に比較的限定して発現する腫瘍関連抗原から同定し、癌患者に投与することで、上述の作用機序により腫瘍特異的 CTL が誘導される。歴史的には、1991年にベルギーの Ludwig 癌研究所の Boon らにより、悪性黒色腫細胞に発現する抗原 MAGE をコードしている遺伝子が同定された¹⁾ことを端緒として、腫瘍関連抗原が次々と同定された。膵癌では K-ras, MUC-1, CEA, survivin, telomerase などが腫瘍関連抗原として注目され、それらの抗原由来のペプチドが臨床研究で用いられてきた。しかし、これらのペプチドはいずれも期待されたような臨床的有効性を実証するには至っていない。そこで近年、東京大学医科学研究所の中村祐輔教授(現シカゴ大学教授)のグループを中心に、腫瘍に特異的で正常細胞にはきわめて発現の少ない、かつ、癌細胞の増殖に必須の抗原(oncoantigen)を DNA マイクロアレイの手法を用いて同定し、それらを由来とする免疫原性の高いペプチドワクチンを用いた臨床試験が行われている。使用するペプチドワクチンに関しては単剤から複数のカクテルワクチンを用いる傾向にあり、複数のペプチド特異的 CTL を誘導することで単剤よりも強力な抗腫瘍効果が得られることが、臨床試験の結果から明らかになりつつある。その他、同一の HLA であっても、免疫応答を誘導し得るペプチドが異なる点に注目し、特異的免疫応答を誘導できる複数種類のペプチドの中から、個々に免疫応答が誘導できるかどうかを診断して最適なペプチドを選定する(テーラーメイド型)ペプチドワクチン²⁾も膵癌を対象として開発段階にある。

2) 樹状細胞ワクチン

エペトープペプチドがより効率的に DC で HLA Class I と結合して抗原提示されるように、① *ex vivo* で樹状細胞を拡大培養し、ペプチドを樹状細胞にパルスして投与する、②腫瘍抗原遺伝子をコードした cDNA または RNA を遺伝子導入した樹状細胞を投与する、といった試みがなされている。DC ワクチンは GMP グレードでの樹状細胞の調整が必要であるが、理想的な戦略といえる。膵癌での樹状細胞ワクチンの臨床応用はま

だまだ少ないが、本邦では WT1 ペプチドパルス樹状細胞ワクチンの早期臨床試験が開始されている。

3) whole tumor cell vaccine

米国の Johns Hopkins 大学を中心に開発されている GM-CSF 遺伝子導入同種膵癌細胞ワクチンが報告されている³⁾。増殖能を制御した膵癌細胞そのまま投与するため、特定の腫瘍関連遺伝子を同定する必要なく、理論上、一定の腫瘍抗原ペプチドを投与したことになる。GM-CSF は樹状細胞のリクルートや増殖、分化において重要であると考えられる。

4) 遺伝子改変のウイルスや細菌を応用した癌ワクチン

腫瘍抗原遺伝子を発現するよう遺伝子改変されたウイルスあるいは細菌は樹状細胞などの抗原提示細胞内に取り込まれ、癌抗原を遺伝子発現することで、抗原提示を増強し、細胞性免疫を惹起する。Listeria monocytogenes は自然免疫と獲得免疫を惹起するため、癌ワクチンとして応用されている。膵癌の腫瘍関連抗原として注目される Mesothelin を発現する Listeria が開発されており、膵癌を対象とする早期臨床試験が行われている。

膵癌ワクチン療法の課題と展望

膵癌だけでなく、種々の癌腫に対して癌免疫療法が試みられているが、共通の課題として癌の免疫逃避機構⁴⁾が挙げられる。すなわち、癌細胞の heterogeneity による腫瘍関連抗原および HLA Class I の発現低下、癌の微小環境における免疫抑制因子(interleukin-10, transforming growth factor(TGF)- β などの免疫抑制性サイトカインや制御性 T 細胞)による抗腫瘍免疫の抑制がある。癌免疫療法の臨床応用を考えるうえで、癌の免疫逃避の克服は必須である。膵癌に対するペプチドワクチンの臨床試験では HLA Class I の安定した発現が期待できる腫瘍周囲の新生血管を標的とするペプチド⁵⁾を用いるとともに oncoantigen 由来のペプチドを用いることで、癌の heterogeneity による免疫逃避を回避することが試

みられている。また、対象患者はこれまで癌の免疫逃避を避けることができない進行膵癌の患者であったが、今後はその影響がきわめて少ない切除後膵癌の再発予防におけるペプチドワクチンの有効性についての臨床研究を進めていく必要がある。その他、すでに米国FDAで承認された ipilimumab が CTLA-4 を標的としたように、PD-1 (programmed cell death-1) といった腫瘍免疫において抑制的に働く補助刺激分子を標的とした治療法が開発段階にあり、癌ワクチンとの併用の可能性もあり有望である。一方、癌細胞の中に、高い造腫瘍性、自己複製能および多分化能を有する癌幹細胞が同定され、化学療法や放射線療法に抵抗性であることから、癌幹細胞を標的とした癌ワクチンも魅力的な治療戦略である。まずは癌幹細胞に特異的な抗原を同定することが肝要である。

◎文献

- 1) van der Bruggen P, Traversari C, Chomez P, et al : A gene encoding an antigen recognized by cytolytic T lymphocytes on a human melanoma. *Science* 254 : 1643-1647, 1991
- 2) Yanagimoto H, Shiomi H, Satoi S, et al : A phase II study of personalized peptide vaccination combined with gemcitabine for non-resectable pancreatic cancer patients. *Oncol Rep* 24 : 795-801, 2010
- 3) Lutz E, Yeo CJ, Lillemo KD, et al : A lethally irradiated allogeneic granulocyte-macrophage colony stimulating factor-secreting tumor vaccine for pancreatic adenocarcinoma. A Phase II trial of safety, efficacy, and immune activation. *Ann Surg* 253 : 328-335, 2011
- 4) Khong HT, Restifo NP : Natural selection of tumor variants in the generation of "tumor escape" phenotypes. *Nature immunology* 3 : 999-1005, 2002
- 5) Miyazawa M, Ohsawa R, Tsunoda T, et al : Phase I clinical trial using peptide vaccine for human vascular endothelial growth factor receptor 2 in combination with gemcitabine for patients with advanced pancreatic cancer *Cancer science* 101 : 433-439, 2010

(宮澤基樹, 山上裕織)

トピックス

膵腫瘍におけるムチンコア蛋白 (MUC) の分子病理

▶ ムチンについての概要

ムチン(MUC)については、英文では“Mucins in human neoplasms : Clinical pathology, gene expression and diagnostic application”という総説論文で¹⁾、和文では『病理と臨床』の臨時増刊号 (Vol.29, 2011)²⁾「病理診断に役立つ分子生物学」のなかで詳細に述べられている。

厳しい環境の外界に直接接する上皮細胞の表面を覆い、体内のホメオスターシスを保つ最前線に存在しているのがムチンである。ムチンは、その骨格に、セリン、スレオニン、プロリンを多く含み、「MUC」というニックネームで呼ばれるコア蛋白を有し、クローニングされた順に番号が付いている。ムチンには、細胞膜に結合して、外界の情報を細胞に伝え、細胞の増殖、分化、アポトーシス等にも関連している「膜結合ムチン(MUC1, MUC4 など)」と、消化管や気道などの粘膜の表面を保護し、食物や便の通りや気道の分泌を良くする粘液の主成分である「分泌型ムチン(MUC2, MUC5AC など)」とがある(図VI-46)。そのコア蛋白のセリンとスレオニン残基にO-グリコシド結合する糖鎖を多数有し、それが分子量の半分以上を占め、その糖鎖抗原には、腫瘍マーカーとして有名な CA19-9 (sialyl Le^a), STN (sialyl-Tn), SLX (sialyl Le^{x-i}) などが知られている。

▶ 膵腫瘍におけるムチン発現の意義

筆者らは、膵腫瘍における MUC の発現状況が、膵腫瘍の組織分類に非常に有用であり、しかも予後を含む臨床病理学的所見とよく一致し、手術か、経過観察かというような、具体的な治療法の選択に役立つことを提唱してきた。その後の他施設での研究でも筆者らの提案が追認され、国際的なコンセンサスが得られるようになってきた。

浸潤性に増殖して非常に予後の悪い膵癌におけるムチン発現は、MUC1 (汎上皮性膜結合ムチン)

Use of omentum or falciform ligament does not decrease complications after pancreaticoduodenectomy: Nationwide survey of the Japanese Society of Pancreatic Surgery

Masaji Tani, MD,^a Manabu Kawai, MD,^a Seiko Hirono, MD,^a Takashi Hatori, MD,^b Toshihide Imaizumi, MD,^c Akimasa Nakao, MD,^d Shinichi Egawa, MD,^e Takehide Asano, MD,^f Takukazu Nagakawa, MD,^g and Hiroki Yamaue, MD,^a Wakayama, Tokyo, Isehara, Nagoya, and Sendai, Japan

Background. Wrapping is thought to prevent pancreatic fistula and postoperative hemorrhage for pancreaticoduodenectomy (PD), and we analyzed whether omentum/falciform ligament wrapping decreases postoperative complications after PD.

Methods. This is a retrospective study of wrapping using the omentum/falciform ligament in patients that underwent PD between January 2006 and June 2008 in 139 institutions that were members of the Japanese Society of Pancreatic Surgery.

Results. Ninety-one institutions responded to the questionnaires, and data were accumulated from 3,288 patients. The data from 2,597 patients were acceptable for analysis; 918 (35.3%) patients underwent wrapping and 1,679 patients did not. A pancreatic fistula occurred in 623 patients (37.3%) in the nonwrapping group, in comparison to 393 patients (42.8%) in the wrapping group ($P = .006$). The incidence of a grade B/C pancreatic fistula was lower in the nonwrapping group than the wrapping group (16.7% vs 21.5%; $P = .002$). An intra-abdominal hemorrhage occurred in 54 patients (3.2%) in the nonwrapping group, which was similar to the incidence in the wrapping group (32 patients; 3.5%). The mortality was 1.3% and 1.0% in nonwrapping and wrapping groups, respectively. A multivariate analysis revealed 7 independent risk factors for pancreatic fistula; male, hypoalbuminemia, soft pancreas, long operation time, extended resection, pylorus preservation, and omentum wrapping. There were 4 independent risk factors for early intra-abdominal hemorrhage and 2 independent risk factors for late intra-abdominal hemorrhage.

Conclusion. This retrospective study revealed that omentum wrapping did not decrease the incidence of pancreatic fistula. An additional validation study is necessary to evaluate the efficacy of wrapping for PD. (*Surgery* 2012;151:183-91.)

From the Second Department of Surgery,^a Wakayama Medical University School of Medicine, Wakayama; Department of Surgery,^b Institute of Gastroenterology, Tokyo Women's Medical University, Tokyo; Department of Gastroenterological Surgery,^c Tokai University School of Medicine, Tokyo; Department of Surgery II,^d Nagoya University Graduate School of Medicine, Isehara, Nagoya; Division of Hepato-Biliary-Pancreatic Surgery,^e Department of Surgery, Tohoku University Graduate School of Medicine, Sendai; Department of Surgery,^f Teikyo University School of Medicine, Tokyo; and the Japanese Society of Pancreatic Surgery,^g Wakayama, Japan

PANCREATICODUODENECTOMY (PD) is a major operation associated with a high incidence of mortality and morbidity, and numerous trials have been attempted

Accepted for publication July 7, 2011.

Reprint requests: Hiroki Yamaue, MD, Second Department of Surgery, Wakayama Medical University, School of Medicine, 811-1 Kimiidera, Wakayama 641-8510, Japan. E-mail: yamaue-h@wakayama-med.ac.jp.

0039-6060/\$ - see front matter

© 2012 Mosby, Inc. All rights reserved.

doi:10.1016/j.surg.2011.07.023

to decrease the mortality and morbidity after PD.¹⁻⁴ The incidence of mortality has decreased at high-volume centers because of the progression of surgical techniques and perioperative treatment⁵⁻⁷; however, the incidence of morbidity still remains high.^{1-4,8-10} Pancreatic fistula, delayed gastric emptying,^{11,12} and postoperative hemorrhage after PD are the most frequent postoperative complications. Although delayed gastric emptying is not a lethal complication, both pancreatic fistula and postoperative intra-abdominal hemorrhage can lead to

operation-related death.^{13,14} In addition, a low incidence of complications is required in pancreatic surgery in order to administer postoperative adjuvant therapy quicker to improve the survival of patients with pancreatic cancer.¹⁵ The International Study Group of Pancreatic Fistula (ISGPF) has proposed a consensus definition and clinical grading of postoperative pancreatic fistula, which made it possible to compare the incidence of pancreatic fistula associated with various surgical techniques.¹⁶

Wrapping with omentum/falciform ligament is one of the procedures to protect the surrounding organs against the pancreatic juice having autolytic activity, and this surgical technique is simple and easy for surgeons to perform. Several reports have so far shown the usefulness of wrapping after PD at individual institutions.^{6,17-20} However, such wrapping may disturb the drainage of amylase-rich fluid, which might cause intra-abdominal adipose tissue inflammation like panniculitis, which could result in the occurrence of an intra-abdominal abscess.

The Japanese Society of Pancreatic Surgery (JSPS) decided to perform a nationwide survey to evaluate whether wrapping using the omentum/falciform ligament can help to prevent postoperative complications after PD.

MATERIAL AND METHODS

Patients. A nationwide survey of omental wrapping in patients who underwent PD between January 2006 and June 2008 was conducted at the initiative of JSPS to compare the patients' characteristics, preoperative status, preoperative treatment, surgical factors, perioperative status, and postoperative outcomes.

Postoperative complications. Pancreatic fistula was defined according to the ISGPF guidelines as an amylase level in the drainage fluid on postoperative day (POD) 3 that was >3 times the normal serum amylase level.¹⁶ Postoperative intra-abdominal hemorrhage was defined as bleeding requiring a blood transfusion, reoperation, or interventional radiology. Early intra-abdominal hemorrhage indicates incomplete hemostasis and a failure of carrying out sufficient intra-operative management. It was defined as occurring within 3 days after PD, and it was not associated with any other postoperative complications. Late intra-abdominal hemorrhage is associated with other postoperative complications, including pancreatic fistula and intra-abdominal abscess. A biliary fistula was defined as the presence of bile in the drainage fluid that persisted to POD 4. An intra-abdominal abscess was defined as intra-abdominal fluid collection with positive cultures identified by ultrasonography

or computed tomography associated with persistent fever and elevated white blood cells. Delayed gastric emptying is defined as output from a nasogastric tube of >500 mL per day that persists beyond POD 10, the failure to maintain oral intake by POD 14, or the reinsertion of a nasogastric tube. Vascular complications were defined as cerebral infarction, cerebral hemorrhage, and deep vascular embolization. Cardiac complications were defined as myocardial infarctions and heart failure. Respiratory complications were defined as pneumonia, pulmonary embolism, and respiratory distress requiring mechanical ventilation. Renal failure was defined as acute onset of hemodialysis. Mortality was defined as death within POD 30.

Statistical analyses. Comparisons between the 2 groups were carried out using unpaired *t* test for continuous data and the 2-tailed Chi-square or the Fisher exact test, where appropriate, for categorical data. The Tukey significant difference test was performed to evaluate the differences in postoperative drain amylase level among 3 groups. All factors with $P < .1$ in a univariate analysis were analyzed by a multivariate analysis. The analyses were performed with SPSS software for Windows (version 15.0; SPSS Inc., Chicago, IL). All statistical tests were 2-sided, and significance was defined as $P < .05$. The results are reported as the mean \pm standard deviation.

RESULTS

Patients. Ninety-one institutions (65.5%) responded to the questionnaires, and the data from 2,597 patients were able to evaluate the occurrence of pancreatic fistula using the ISGPF criteria and postoperative hemorrhage and were acceptable for analysis in this study. The patients' characteristics are shown in Table I. The average number of PDs was 10.5 ± 11.5 and 7.5 ± 7.0 per year at the institutions with and without wrapping, respectively. There was no difference between the 2 groups ($P = .141$).

Postoperative outcome. The postoperative complications are shown in Table II. The incidence of pancreatic fistula in the wrapping group was significantly higher than that in the nonwrapping group. The intra-abdominal hemorrhagic site was identified in 24 patients in the nonwrapping group, and 22 patients (83.3%) experienced hemorrhage from an artery (9 common hepatic artery, 6 gastroduodenal artery, 4 superior mesenteric artery, 1 left gastric artery, 1 proper hepatic artery, and 1 splenic artery). The intra-abdominal hemorrhagic site was identified in 20 patients in the wrapping group, and 18 patients (90.0%) experienced hemorrhage from an artery (6 gastroduodenal artery, 5 common hepatic artery, 2 proper hepatic

Table I. Patients' characteristics

Parameter	Nonwrapping group (n = 1,679)	Wrapping group (n = 918)*	P value
Age, y (mean ± SD)	65.9 ± 10.1	66.5 ± 9.9	.100
Gender (male/female)	1,018/661	541/377	.402
Disease (carcinoma/other)	1,337/342	729/189	.895
Comorbidity			
Diabetes mellitus	466	268	.436
Respiratory disease	82	39	.463
Chronic pancreatitis	120	75	.344
Preoperative examination (mean ± SD)			
Hemoglobin (g/dL)	12.4 ± 1.7	12.4 ± 1.6	.887
Creatinine (mg/dL)	0.77 ± 0.41	0.79 ± 0.59	.490
Albumin (g/dL)	3.86 ± 0.49	3.81 ± 0.51	.017
Total bilirubin (mg/dL)	3.0 ± 4.8	2.2 ± 3.3	<.001
AST (IU/L)	70.3 ± 101.9	56.0 ± 79.3	<.001
ALT (IU/L)	100.0 ± 142.7	83.1 ± 211.6	.017
Amylase (IU/L)	123.7 ± 139.5	121.8 ± 181.6	.790
Preoperative biliary drainage	743 (44.3%)	478 (52.1%)	<.001
Duration of preoperative biliary drainage, days (mean ± SD)	25.8 ± 17.5	29.7 ± 21.4	.001
Pylorus preservation	1,016 (60.5%)	384 (41.8%)	<.001
Extended lymph node resection	1,399	773	.307
Pancreatic texture (hard/soft)	730/949	408/510	.635
Pancreaticoenterostomy			
Jejunum/stomach	1,523/156	792/126	.001
Duct-to-mucosal anastomosis	1,269 (75.6%)	778 (84.7%)	<.001
Usage of pancreatic stent tube	1,262 (75.1%)	779 (84.9%)	.001
Operative time, min (mean ± SD)	441 ± 137	534 ± 142	<.001

*Wrapping of pancreatic anastomosis or vessels, including hepatic artery, using either the omentum or falciform ligament.
ALT, Alanine aminotransferase; AST, aspartate aminotransferase.

artery, 1 superior mesenteric artery, 1 right hepatic artery, 1 left hepatic artery, 1 splenic artery, and 1 dorsal pancreatic artery). Thirty patients (75%) had late intra-abdominal hemorrhage accompanied by grade B + C pancreatic fistula and/or intra-abdominal abscess, and intra-abdominal hemorrhage was accompanied by all grades of pancreatic fistula in 32 patients (80%). Mortality was 1.3% and 1.0% in the nonwrapping and wrapping groups, respectively.

The level of amylase in the drainage fluid is shown in Table III. The amylase level of the omentum wrapping group was significantly lower than the other groups ($P = .027$) on POD 3.

Complications according to the material used for wrapping after PD. Two materials were used to wrap (Table IV). The incidence of grade B + C pancreatic fistula in the omentum group (23.9%) was significantly higher than in both the nonwrapping ($P < .001$) and falciform ligament groups ($P < .001$).

Complications according to the location of wrapping after PD. Wrapping was performed at 2 locations: wrapping of vessels, including the

common hepatic artery, proper hepatic artery, stump of gastroduodenal artery, and portal vein, and wrapping of the pancreaticoenterostomy (Table V). The incidences of grade B + C pancreatic fistula in the anastomosis wrapping group and the vessel wrapping groups were also higher than those in the nonwrapping group.

Risk factors of postoperative complications. The risk factors of grade B + C pancreatic fistula and intra-abdominal hemorrhage were predicted using categorized data by a univariate analysis (Tables VI and VII). A multivariate analysis predicted 7 independent risk factors for grade B + C pancreatic fistula (Table VIII). A multivariate analysis revealed 4 independent risk factors for early intra-abdominal hemorrhage: male gender ($P = .017$; odds ratio [OR], 2.078), long operation time (≥ 600 minutes; $P = .020$; OR, 2.198), blood transfusion ($P = .002$; OR, 2.747), and soft pancreas ($P < .001$; OR, 4.184), and 2 independent risk factors for late intra-abdominal hemorrhage: male gender ($P = .017$; OR, 2.591) and soft pancreas ($P = .001$; OR, 4.274).