



Nagoya City University Academic Repository

学位の種類	博士 (医学)
報告番号	甲第1468号
学位記番号	第1054号
氏名	小林 正学
授与年月日	平成 27年 3月 25日
学位論文の題名	<p>Prognostic factors related to add-on dendritic cell vaccines on patients with inoperable pancreatic cancer receiving chemotherapy: a multicenter analysis (切除不能な進行膵臓癌に対する樹状細胞ワクチン療法の有用性と予後因子の検討)</p> <p>Cancer Immunol Immunother. 2014;63:797-806.</p>
論文審査担当者	主査： 山崎 小百合 副査： 城 卓志, 芝本 雄太

論文内容の要旨

【目的】

膵癌はきわめて難治性の癌であり、診断時の切除率は30~40%と過去10年にわたってほとんど変化がない。抗癌剤が主な治療であり、1997年に塩酸 gemcitabine (GEM) の生存期間中央値が5.7ヶ月と報告されている。2011年にGEST studyでGEMに対するTS-1の非劣性が示されたものの、GEMに対するGEM+TS-1併用治療の優越性は示されなかった。現状において化学療法の一次、二次治療によっても進行する場合には有効な治療法がなく新規治療の開発が急務である。近年、樹状細胞の強力な抗原提示機能を利用した樹状細胞ワクチン療法が発達し、膵臓癌に対して一定の効果が得られていると報告されているが、これまでの報告では症例が少なく評価が困難であった。そのため我々は国内の7施設で樹状細胞ワクチン療法を受けた症例をretrospectiveに評価し、治療効果や予後因子を検討した。

【方法】

2007年6月から2012年7月に同一製造法で樹状細胞ワクチンを実施している国内の7施設(信州大学、長崎大学、札幌北楡病院、セレンクリニック東京、セレンクリニック名古屋、セレンクリニック神戸、セレンクリニック福岡)で樹状細胞ワクチンと抗癌剤を併用した切除不能膵臓癌の255例を対象とした。全生存期間はKaplan-Meier法を用いてLog-rank検定を施行し、予後規定因子の抽出にはCox比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。樹状細胞ワクチンの作製方法として、患者末梢血単核球より成分採血(アフエレース)で採血した単核球からCD14+単核球を分離し、単核球をプラスチック培養皿に付着させることにより単核球を純化し、GM-CSFとIL-4存在下に5日間培養して未熟樹状細胞を誘導し、OK432やPGE2にて24時間刺激して成熟樹状細胞へ誘導した。癌関連抗原としては、WT1ペプチド(HLA-A2402あるいはHLA-A0201,0206)、MUC1ペプチド(HLA非拘束性30mer)を使用し、これらを樹状細胞にパルスして樹状細胞ワクチンを作成した。樹状細胞の投与量は1回 1×10^7 個となるように調節し、品質管理として樹状細胞の表面抗原の解析と培養液中のエンドトキシン、マイコプラズマの有無を確認した。投与方法は、1回あたり 1×10^7 個の樹状細胞を含むワクチンを約2週間毎に腋窩部もしくは鼠径部に皮内に投与し、薬剤アレルギーのない患者に対してはピシバニール(OK432)をアジュバントとして用いた。

【結果】

255例のうち局所進行癌は78例(31%)、転移性癌は177例(69%)であった。初回診断から樹状細胞ワクチン開始までの中央値は4.0ヶ月、樹状細胞ワクチン投与回数の中央値は8回(5-55回)、併用した抗癌剤はGEMが53%、TS-1が17%、GEM+TS-1が25%であった。樹状細胞ワクチンによる重篤な有害事象は認めず、安全に施行が可能であった。

診断時からの全生存期間は中央値で16.5カ月(95%C.I.=14.4-18.5)、樹状細胞ワクチン開始からの生存期間は中央値で9.9カ月(95%C.I.=8.0-12.9)。単変量解析では樹状細胞ワクチン初回投与からの生存率への影響因子は、患者背景因子として①ECOG-PS、②腹膜転移、③肝転移、④PNI(Prognostic Nutritional Index)の4項目で統計学的有意差を認めた。また、治療関連因子としては樹状細胞ワクチン投与後の局所反応で有意差を認めた。今回は皮膚の発赤の最大径30mm以上を樹状細胞ワクチン投与後の局所反応陽性とし、局所反応陽性例(107例)は陰性例(145例)であった。局所反応の有無により生存曲線を比較すると、樹状細胞ワクチン投与開始から約10ヶ月付近から遅延性に生存曲線の乖離を認め、ワクチンが治療効果を示す際の典型的な生存曲線のパターン(delayed separation curve)が観察された。多変量解析では樹状細胞ワクチン投与部位の局所反応が、診断時およびワクチン開始時からの生存期間において独立した予後規定因子と

同定された。さらに、この局所反応は ①OK432 併用、②樹状細胞ワクチン投与後の 38°C以上の発熱、③樹状細胞ワクチン開始前の血清アルブミン値、④PNI と相関していた。以上より、樹状細胞ワクチン投与後の局所反応は予後と関連し、OK432 が樹状細胞ワクチンのアジュバントとして有用である可能性が示唆された。今後は樹状細胞ワクチン投与後の局所反応と生体内で誘導される特異的免疫の関係を明らかにすることや、前向き臨床試験による検証が必要である。

論文審査の結果の要旨

【目的】

膵癌はきわめて難治性の癌であり、診断時の切除率は30~40%と過去10年にわたってほとんど変化がない。抗癌剤が主な治療であり、1997年に塩酸 gemcitabine (GEM) の生存期間中央値が5.7ヶ月と報告されている。2011年にGEST studyでGEMに対するTS-1の非劣性が示されたものの、GEMに対するGEM+TS-1併用治療の優越性は示されなかった。現状において化学療法の一次、二次治療によっても進行する場合には有効な治療法がなく新規治療の開発が急務である。近年、樹状細胞の強力な抗原提示機能を利用した樹状細胞ワクチン療法が発達し、膵臓癌に対して一定の効果が得られていると報告されているが、これまでの報告では症例が少なく評価が困難であった。そのため我々は国内の7施設で樹状細胞ワクチン療法を受けた症例をretrospectiveに評価し、治療効果や予後因子を検討した。

【方法】

2007年6月から2012年7月に同一製造法で樹状細胞ワクチンを実施している国内の7施設（信州大学、長崎大学、札幌北楡病院、セレンクリニック東京、セレンクリニック名古屋、セレンクリニック神戸、セレンクリニック福岡）で樹状細胞ワクチンと抗癌剤を併用した切除不能膵臓癌の255例を対象とした。全生存期間はKaplan-Meier法を用いてLog-rank検定を施行し、予後規定因子の抽出にはCox比例ハザードモデルによる多変量解析を行った。樹状細胞ワクチンの作製方法として、患者末梢血単核球より成分採血（アフエレース）で採血した単核球からCD14+単球を分離し、単核球をプラスチック培養皿に付着させることにより単球を純化し、GM-CSFとIL-4存在下に5日間培養して未熟樹状細胞を誘導し、OK432やPGE2にて24時間刺激して成熟樹状細胞へ誘導した。癌関連抗原としては、WT1ペプチド（HLA-A2402あるいはHLA-A0201, 0206）、MUC1ペプチド（HLA非拘束性30mer）を使用し、これらを樹状細胞にパルスして樹状細胞ワクチンを作成した。樹状細胞の投与量は1回 1×10^7 個となるように調節し、品質管理として樹状細胞の表面抗原の解析と培養液中のエンドトキシン、マイコプラズマの有無を確認した。投与方法は、1回あたり 1×10^7 個の樹状細胞を含むワクチンを約2週間毎に腋窩部もしくは鼠径部に皮内に投与し、薬剤アレルギーのない患者に対してはピシバニール（OK432）をアジュバントとして用いた。

【結果】

255例のうち局所進行癌は78例（31%）、転移性癌は177例（69%）であった。初回診断から樹状細胞ワクチン開始までの中央値は4.0ヶ月、樹状細胞ワクチン投与回数の中央値は8回（5-55回）、併用した抗癌剤はGEMが53%、TS-1が17%、GEM+TS-1が25%であった。樹状細胞ワクチンによる重篤な有害事象は認めず、安全に施行が可能であった。

診断時からの全生存期間は中央値で16.5カ月（95%CI=14.4-18.5）、樹状細胞ワクチン開始からの生存期間は中央値で9.9カ月（95%CI=8.0-12.9）。単変量解析では樹状細胞ワクチン初回投与からの生存率への影響因子は、患者背景因子として①ECOG-PS、②腹膜転移、③肝転移、④PNI

（Prognostic Nutritional Index）の4項目で統計学的有意差を認めた。また、治療関連因子としては樹状細胞ワクチン投与後の局所反応で有意差を認めた。今回は皮膚の発赤の最大径30mm以上を樹状細胞ワクチン投与後の局所反応陽性とし、局所反応陽性例（107例）は陰性例（145例）であった。局所反応の有無により生存曲線を比較すると、樹状細胞ワクチン投与開始から約10ヶ月付近から遅延性に生存曲線の乖離を認め、ワクチンが治療効果を示す際の典型的な生存曲線のパターン（delayed separation curve）が観察された。多変量解析では樹状細胞ワクチン投与部位の局所反応

が、診断時およびワクチン開始時からの生存期間において独立した予後規定因子と同定された。さらに、この局所反応は ①OK432 併用、②樹状細胞ワクチン投与後の 38℃以上の発熱、③樹状細胞ワクチン開始前の血清アルブミン値、④PNI と関連していた。以上より、樹状細胞ワクチン投与後の局所反応は予後と関連し、OK432 が樹状細胞ワクチンのアジュバントとして有用である可能性が示唆された。今後は樹状細胞ワクチン投与後の局所反応と生体内で誘導される特異的免疫の関係を明らかにすることや、前向き臨床試験による検証が必要である。

【審査の内容】

上記の論文要旨が申請者より発表された後、主査の山崎教授から、使用した樹状細胞の状態、HLA や CTL の解析、腫瘍抗原とアジュバントについて等の免疫学的な質問、第一副査の城教授からは CD14+細胞の調整法、多施設に置ける情報収集の方法、分子標的薬剤や放射線治療などとの併用についての可能性、今後の方針などの質問があった。また第二副査の芝本教授から高精度放射線治療についてと陽子線治療について、専門領域に関する 2 項目の質問があった。これらの質問におおむね満足すべき回答が得られ、学位論文の主旨を十分理解していると判断した。

本研究は膵癌に対する樹状細胞療法における種々の予後因子を明らかにしたものであり、今後さらなる応用が期待される。よって本論文の筆頭著者は博士（医学）の学位を授与されるにふさわしいと判定された。

論文審査担当者 主査 山崎 小百合

副査 城 卓志 、 芝本 雄太