

## 総括研究報告書

1. 研究開発課題名：非小細胞肺癌に対する NKT 細胞を用いた免疫細胞治療の開発研究
2. 研究開発代表者：本橋 新一郎（国立大学法人千葉大学 未来医療教育研究センター）
3. 研究開発の成果

切除不能進行期または再発非小細胞肺癌の抗癌剤一次治療無効症例に対して、NKT 細胞特異的リガンド  $\alpha$ -ガラクトシルセラミド ( $\alpha$  GalCer) を提示させた患者末梢血単核球 (PBMC) 由来樹状細胞 ( $\alpha$ -GalCer パルス樹状細胞) を患者自身に投与する Phase II 試験を先進医療として実施している。主要評価項目は全生存期間、副次評価項目は無増悪生存期間、奏効率・病勢制御率、NKT 細胞特異的免疫反応、安全性である。目標症例数は4年間の登録期間に35例であり、3ヶ月の治療期間に  $\alpha$  GalCer パルス樹状細胞を計4回静脈内投与する。治療後2年間追跡調査を行い、全生存期間、無増悪生存期間を明らかにすることとし、平成24年2月29日より症例登録を開始した。本年度の到達点として、計35例の登録を完了し、3ヶ月間の治療期間を終了することとする。末梢血を用いた免疫モニタリングとして、末梢血単核球の **profiling** や各免疫細胞上の表面抗原発現解析を行う。また NKT 細胞活性化による直接・間接的な免疫増強効果探索として、PBMC や血漿中のサイトカイン産生能を ELISPOT 法などにより測定する。また治療前の免疫抑制状態という点から治療反応性を予測するために、凍結保存検体を用いて免疫抑制性細胞数および免疫細胞上の抑制性補助分子の発現状態および免疫抑制性サイトカイン産生能を重点的に解析する。投与樹状細胞の免疫モニタリングとして、投与細胞上の表面抗原発現を詳細に解析し、治療効果予測可能な投与細胞の分子標的を検索する。

登録基準を満たした進行・再発非小細胞肺癌に対して、平成27年4月1日に34例目、5月13日に35例目の登録を行い、組み入れ予定数35例の登録を完了した。昨年度より治療期間が継続していた2例と併せて計4例において、細胞調製手順書に従って7日ないし14日間培養を行い、全ての培養細胞について出荷のための最終検査を行い、合格を確認後に投与細胞数に調製して細胞製剤の出荷を行った。治療期間終了時に、標的病変を用いた抗腫瘍効果を判定した。8月5日に全症例の治療期間を終了した。本年度に細胞治療を実施した4例に重篤な有害事象を認めていない。また治療期間終了後2年間の追跡調査を行い、全例で治療後の状態の確認を行った。

本免疫治療の作用機序解析および治療効果と相関するバイオマーカー探索のために、末梢血単核球 (PBMC) を用いた免疫モニタリングを実施した。登録全症例の治療期間中に PBMC を採取し、NKT、NK 細胞数などの各種免疫細胞数や細胞表面発現分子の治療により変化したデータを取得している。また凍結保存細胞を用いてサイトカイン産生能 (インターフェロン  $\gamma$ ) を6例にて測定し、4例にて治療による陽転化を認めた。治療前に特徴的な発現分子は治療効果予測マーカーに、治療後に発現変化のある分子は有効性のマーカーとなる可能性があり、免疫学的データの治療前後による変化を蓄積し、生存期間などのデータ確定を待って治療効果との相関を検討する。また各症例で免疫治療として投与した4回の樹状細胞の免疫モニタリングとして、すべての回の細胞を用いて表面抗原発現解析を実施した。本年度に細胞治療を実施した4例について、抗原提示分子発現 (HLA-DR、CD1d、CD11c、CD40、CD83、CD14 など) の確認をした。NKT 細胞の特異的リガンドを提示する CD1d 分子は、投与したすべての細胞表面上に発現していることが確認できた。これらの投与細胞の免疫学的データと、今後得られてくる生存期間などの治療効果との相関を検討し、治療効果予測可能な投与細胞上の発現分子を検索する。