

平成 28 年度 委託研究開発成果報告書

I. 基本情報

- 事業名： (日本語) 臨床研究・治験推進研究事業
(英語) Project Promoting Clinical Trials for Development of New Drugs
- 研究開発課題名： (日本語) 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
(英語) Development of NKT cell targeted immunotherapy for non-small cell lung cancer
- 研究開発担当者 (日本語) 国立大学法人千葉大学 未来医療教育研究センター 教授 本橋新一郎
所属 役職 氏名： (英語) Shinichiro Motohashi, Professor, Future Medicine Research Center, Chiba University
- 実施期間： 平成 28 年 4 月 1 日 ～ 平成 29 年 3 月 31 日
- 分担研究 (日本語) NKT 細胞を用いた免疫細胞治療の実施に関する研究
開発課題名： (英語) The execution of NKT cell targeted immunotherapy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人千葉大学 大学院医学研究院 教授 吉野一郎
所属 役職 氏名： (英語) Ichiro Yoshino, Professor, Graduate School of Medicine, Chiba University
- 分担研究 (日本語) 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
開発課題名： (英語) Immune monitoring research in NKT cell targeted immunotherapy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人千葉大学 大学院医学研究院 教授 中山俊憲
所属 役職 氏名： (英語) Toshinori Nakayama, Professor, Graduate School of Medicine, Chiba University
- 分担研究 (日本語) 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
開発課題名： (英語) The management and promotion of a clinical trial with NKT cell targeted immunotherapy
- 研究開発分担者 (日本語) 国立大学法人千葉大学 医学部附属病院 教授 花岡英紀
所属 役職 氏名： (英語) Hideki Hanaoka, Professor, Chiba University Hospital

II. 成果の概要（総括研究報告）

- ・ 研究開発代表者による報告の場合

和文

切除不能進行期または再発非小細胞肺癌の抗癌剤による一次治療後の症例に対して、NKT 細胞特異的リガンド α -ガラクトシルセラミド(α GalCer)を提示させた患者末梢血単核球(PBMC)由来樹状細胞(α 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た。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 α GalCer パルス樹状細胞を計4回静脈内投与した。細胞調製手順書に従って7日ないし14日間培養を行い、出荷判定基準を満たした細胞を規定投与細胞数に調製した後に、点滴にて投与を行った。治療期間中に細胞投与と関連する重篤な有害事象を認めなかった。治療期間終了時に、標的病変を用いて抗腫瘍効果を判定し、また治療後2年間の追跡調査を行った。平成24年2月より症例登録を開始し、平成27年8月までに計35例の治療期間を終了した。平成29年3月末までに31例の追跡調査を完了した。

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、PBMCを用いて免疫モニタリングを行い、末梢血単核球の各種免疫細胞の profiling や各免疫細胞上の表面抗原発現解析を行った。登録全症例の治療期間中に PBMC を採取し、治療による細胞数の変化として、 $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT 細胞、 α GalCer/CD1d テトラマー陽性細胞の他、活性化 NKT 細胞が増強効果をおよぼす可能性のある NK 細胞などを測定した。その結果、治療により $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT 細胞は 1/3 の症例で増加、 α GalCer/CD1d テトラマー陽性細胞は 2/3 の症例で増加を認めた。さらに NKT 細胞の凍結保存細胞を用いて α GalCer 刺激に反応するサイトカイン産生能を測定した結果、2/3 の症例にて治療による産生増強を認めた。これら免疫学的パラメーターの治療前後による変化のバイオマーカーとしての意義を、本研究期間終了後に確定される臨床データとの相関を検討することで明らかとする。

また投与樹状細胞の免疫モニタリングとして、各症例で免疫治療として投与した4回の樹状細胞を用いて表面抗原発現解析を実施した。抗原提示細胞関連分子(HLA-DR、CD1d、CD11c、CD40、CD83、CD14 など)の発現を解析し、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を確認した。これらの表面抗原分子発現の意義を、本研究期間終了後に確定される臨床データとの相関を検討することで明らかとする。

試験の実施体制、モニタリング体制、データマネージメントの整備と実施を行った。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した。定期的な調整会議を実施してスタッフの連携を図りつつ、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行った。試験の実施体制のモニタリングに加え、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。データマネー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ージメントシステム(CDMS)構築の上、試験の稼働に合わせてデータマネージメント業務を実施した。また、症例登録業務を実施し、被験者の適格性を第三者の立場から確認する作業を SOP に沿って実施した。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た。実施医療機関の監査業務を委託し、監査計画に基づき実施した。

We performed a phase II clinical trial of α -Galactosylceramide (α GalCer), a specific ligand for NKT cells, pulsed dendritic cell (DC) therapy in patients with advanced or recurrent non-small cell lung cancer who had completed the first-line chemotherapy. The primary endpoint was overall survival and secondary endpoints were progression free survival, the response rate, the disease control rate, the NKT cell specific immune responses and the safety profile. We planned to enroll 35 patients in the trial. α GalCer-pulsed DCs were induced from peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) according to the cell culture protocol and the patients received a total of four intravenous injections of α GalCer-pulsed DCs over 3-month period. No serious adverse events related to the cell therapy were occurred during the treatment period. The clinical effects were evaluated at the end of treatment period and patients were followed up for 2 years. In accordance with the protocol, a total of 35 patients were enrolled from February 2012 to October 2015 and a total of 31 patients completed the 2-year follow-up period.

Immunological analyses, such as evaluation of immunological cell surface markers, were performed to elucidate the antitumor mechanisms of the activated NKT cells. PBMCs were collected during the treatment period and the changes in the number of $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT cells, α GalCer/CD1d tetramer⁺ cells and NK cells were measured by flow cytometry. As a result, one-third of the patients showed an increased level of $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT cells and two-thirds of patients showed increased level of α GalCer/CD1d tetramer⁺ cells. Furthermore, the number of α GalCer stimulation-specific interferon- γ producing cells were elevated in two-thirds of the patients. The implication of these changes in the immunological parameters after α GalCer-pulsed DC treatment will be revealed after checking the correlation with the clinical data.

Immune monitoring of injected DCs was performed. The cell surface expression levels of antigen presenting molecules, such as HLA-DR, CD1d, CD11c, CD40, CD83 and CD14 were analyzed by flow cytometry. An α GalCer presenting molecule, CD1d, was expressed on all of the injected DCs. The significance of these immunological parameters on DCs will be revealed after checking the correlation with the clinical data in the future.

We conducted the clinical trial by organizing a project group of medical professionals, monitoring staff, and data management staff. When executing the clinical trial, a project leader was assigned to manage the project by watching over enrollment proceedings, and adverse event occurrences. As for adverse events, the project leader confirmed that appropriate treatment was provided and the adverse events were appropriately reported. Up to March 2017, about 60 times of internal meetings were held every month with an attendance of the principle investigator in cooperation with the clinical staff who were involved in the trial. Study monitoring was conducted to confirm that the clinical trial site meets the requirements to appropriately conduct of the study, and the enrollment of appropriate research participants and adherence to the clinical trial protocol. Clinical Data Management System was established for data collection, and clinical data management activities were conducted properly throughout the study. In order to secure the quality assurance of clinical trial and to improve the credibility of data, we followed systematic procedures from Case Report Form creation to data fixation. A patient registration center was set for enrollment in the trial, and

a patient's eligibility was examined objectively according to Standard Operating Procedure. We selected a contract research organization to audit the clinical trial site according to an audit plan.

- ・ 研究開発分担者による報告の場合

III. 成果の外部への発表

(1) 学会誌・雑誌等における論文一覧（国内誌 2 件、国際誌 0 件）

1. 伊原史英, 本橋新一郎. 標準治療としてのがん免疫治療と将来展望. *調査研究ジャーナル*. 2016, 5(2):96-102.
2. 伊原史英, 本橋新一郎. ナチュラルキラーT (NKT) 細胞療法. *日本臨床*. 2017, 75(2):312-316.

(2) 学会・シンポジウム等における口頭・ポスター発表

1. NKT 細胞免疫系をターゲットにしたがんの免疫細胞治療—10 年間の臨床研究の成果と今後の展望—, 口頭, 中山俊憲, 本橋新一郎, 國井直樹, 岡本美孝, 第 17 回日本がん免疫学会総会, 2013/7/5, 国内.
2. 抗腫瘍免疫機構の最先端, 口頭, 中山俊憲, 本橋新一郎, 國井直樹, 岡本美孝, 第 66 回日本胸部外科学会定期学術集会, 2013/10/17, 国内.
3. NKT cell-targeting immunotherapy for non-small cell lung cancer, 口頭, 本橋新一郎, 第 18 回日本がん免疫学会総会, 2014/8/1, 国内.
4. NKT 細胞を標的とした癌免疫治療とバイオマーカー探索研究, 口頭, 本橋新一郎, 第 9 回獣医アトピー・アレルギー・免疫学会シンポジウム, 2015/2/1, 国内.
5. 非小細胞肺癌に対する NKT 細胞特異的免疫細胞療法の開発, 口頭, 本橋新一郎, 第 12 回日本免疫治療学研究会学術集会, 2015/2/28, 国内.
6. 非小細胞肺癌に対する NKT 細胞特異的免疫細胞療法の開発, 口頭, 本橋新一郎, 第 43 回日本臨床免疫学会総会, 2015/10/22, 国内.
7. Antibody-Dependent Cellular Cytotoxicity Toward Neuroblastoma Enhanced by Activated iNKT Cells, ポスター, Motohashi, S., Mise, N., CD1-MR1 2015, 2015/11/15, 国外.
8. 非小細胞肺癌に対する治療における NKT 細胞の果たす役割, 口頭, 本橋新一郎, 第 56 回日本肺癌学会学術集会, 2015/11/28, 国内.
9. NKT 細胞によるがんの制御を目指した免疫細胞治療, 口頭, 本橋新一郎, メディバイオ事業研究会第 11 回講演会, 2015/12/7, 国内.
10. 細胞製剤を用いた免疫療法の現状と今後の課題, 口頭, 本橋新一郎, 第 5 回化合物安全性研究所学術講演会, 2016/2/10, 国内.
11. NKT 細胞によるがん治療, 口頭, 本橋新一郎, 日本医科大学医学会第 26 回シンポジウム, 2016/6/4, 国内.
12. 抗腫瘍免疫応答を利用したがん免疫治療の作用機序, 口頭, 本橋新一郎, 第 26 回がん臨床研究フォーラム, 2016/6/17, 国内.
13. NKT 細胞免疫系をターゲットにしたがんの細胞治療, 口頭, 中山俊憲, 第2回免疫治療 Expert Seminar, 2016/11/2, 国内.

(3) 「国民との科学・技術対話社会」に対する取り組み
該当無し

(4) 特許出願
該当無し