

(続紙 1)

京都大学	博士（生命科学）	氏名	木村 幸乃
論文題目	進行性膵癌に対するゲムシタビン／S-1併用樹状細胞ワクチン療法の臨床学的・免疫学的評価		
(論文内容の要旨)			
癌による死亡者は増加し続け、最新の統計では死亡者の3人に1人は癌で死亡していることが示されている。中でも膵癌は5年生存率がわずか5.5%と極めて予後不良であり、標準治療以外の革新的な治療法の開発が必要とされている。本研究では 樹状細胞(DC)ワクチン療法を行うためにDCの誘導方法について、リンパ節への移動能を上昇させるためにこれまで用いられてきた方法を一部変更して、その評価をin vitroで行った。その後、この方法によって調製されたDCをワクチン療法として 腫瘍特異抗原を提示させるため、腫瘍細胞溶解物や蛋白の荷重には未熟DCを、ペプチドの場合は成熟DCを進行性膵がん患者に2週間に一度1x10⁷細胞として皮下注射し、化学療法としてジェムザール(GEM)や体内で5-フッ化ピリミジン（5-FU）に変換される経口剤であるS-1単独あるいは併用下、更に一部の患者ではリンホカイン活性化キラー細胞（LAK）療法を行い、DCを4-7回投与した患者49名を対象として、その効果を生存期間、治療前後における抗原特異的CD8+ T細胞数とCD4+ 制御性T細胞(Treg)数、PET-CT等により解析した。 その結果、以下の点が示された。DCの誘導に関しては、これまでの報告通り未熟な細胞に食作用能が高いことを確認した後、成熟活性化のためにTLR9のリガンドであるOK-432の添加によりIL-12産生が惹起されることおよびPGE2の同時添加によってリンパ節への移動能に必須のCCR7発現が大きく上昇した。このようにして調製したDCは腫瘍抗原特異的抗原ペプチド提示させることにより特異的細胞傷害性T細胞（CTL）を誘導することが標的細胞に対する細胞傷害活性およびIFN-γ産生から明らかとなった。また本研究で行ったDCワクチン療法ではグレード3以上の重篤な有害事象は認められなかった。生存期間についての統計学的解析では、生存期間中央値は360日であり、最近の化学療法剤(GEM + S-1)のみでの報告の結果と比べるとやや延長傾向が認められた。さらに、LAK療法を併用していた患者群の方が、併用しなかった患者群に比べて生存期間中央値が延長する傾向が見られた。しかも、LAKとの併用患者には2名のcomplete responseとされるものが含まれ、さらに5名中3名のpartial response、10名中9名のstable disease患者がいた。但し、腫瘍特異的CD8+ T細胞数の増加は認められなかった。しかし、CD4+ Treg数の変化については、GEM + S-1の両剤投与群では、末梢血中における抑制T細胞の減少が認められ、臨床学的評価には一定の相関関係が見られた。 本研究において申請者は、DC単独での細胞療法における有効性を示すには至っていないものの、化学療法剤やLAK療法との併用の有効性を示唆した。			

(論文審査の結果の要旨)

全癌において発生率が増加しているものの死亡率が低下している中で膵癌だけは発生率と共に死亡率も増加するという極めて予後が不良な癌である。化学療法による治療が一般的ではあるが限界もあることから、新たな治療法の開発が目指されている。そのような中で、本研究は、抗原特異的免疫応答を誘導するために必須の抗原提示細胞として強力な作用を発揮する樹状細胞(DC)を“nature's adjuvant”あるいは“DCワクチン”として用い、微弱な抗腫瘍免疫応答をヒト進行性膵癌患者において誘導しようとした試みである。

患者末梢血単球よりGM-CSFとIL-4によりDCを誘導後、これまでのPGE2とTNF- α の組み合わせをPGE2とOK-432に変えることにより、細胞性免疫応答を誘導することが知られるIL-12産生を可能にし、腫瘍抗原(腫瘍溶解物や特異的抗原ペプチドWT-1)をDCに負荷して用いている。治療においては化学療法剤(gemcitabine, S-1)の両者あるいはどちらか一方との併用、あるいは更に活性化リンパ球(LAK)療法を組み合わせ、標準治療抵抗性を示す進行性膵癌患者を対象とし、その効果を生存期間や臨床学適応等、治療前後におけるWT-1特異的細胞T細胞の誘導ならびに抑制性T細胞数の増減を調べている。

その結果、薬剤耐性になっている膵癌患者において、DCワクチンの使用により癌の進行を一定程度抑制しているように見える。一方、LAK療法を加えた治療では、さらなる延命効果が認められており、この中には、5.9%の完全奏効(complete response)とされるものが含まれ、さらに8.8%の部分奏功(partial response)、26.5%の安定(stable disease)患者がいた。WT-1特異的CD8+T細胞の誘導に関しては、治療効果との明確な相関関係は認められていないものの、末梢血中における抑制性T細胞の数と比率については、有意とはいえないがやや減少傾向にあるとの結果となっている。

治療の奏功についての解析であり、厳密な意味での臨床研究とはいえない面もあるが、解析は一定水準でなされている。

よって、本論文は博士(生命科学)の学位論文として価値あるものと認めた。なお、平成24年2月1日、論文内容とそれに関した口頭試問を行った結果、申請論文の大幅な改訂が必要とされた。審査員による指摘を受けて改訂・再提出された論文について、審査員全員が内容を確認の上、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 年 月 日