

# 第5回日本免疫治療学研究会 (JRAI) 学術集会

## 次世代の免疫細胞療法の構築に向けて

日時：2008年3月1日(土) 10:00~18:00

会場：新横浜プリンスホテル4F「若菜」

会長：江川滉二(東京大学名誉教授)

共催：日本免疫治療学研究会/株式会社メディネット

### シンポジウム「癌の免疫抑制機構～現状と課題～」

司会 九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学教授 片野光男氏  
京都大学名誉教授 和田洋巳氏

演者 北海道大学遺伝子病制御研究所免疫制御分野教授 西村孝司氏  
(発表順) 聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター生体機能制御研究部門部門長・准教授 清野研一郎氏  
京都大学再生医科学研究所生体機能調節学分野 山口智之氏  
九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学教授 片野光男氏

### 教育講演「消化器癌の細胞療法とワクチン療法」

司会 帝京大学附属溝口病院外科教授 杉山保幸氏

演者 山口大学大学院医学系研究科消化器・腫瘍外科学教授 岡 正朗氏

### ワークショップ「免疫細胞療法の新たな展開」

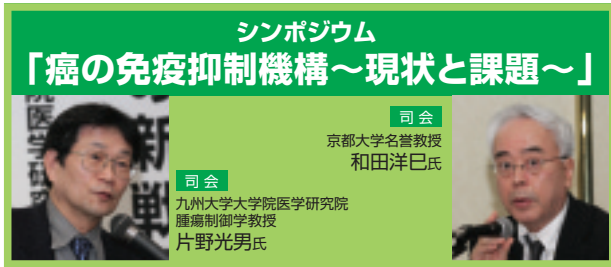
司会 千葉県がんセンター診療部長 木村秀樹氏  
川崎医科大学臨床腫瘍学准教授 山口佳之氏

演者 医療法人さわらび会福祉村病院長寿医学研究所 石黒雅江氏  
(発表順) 医療法人社団混志会瀬田クリニック 岩井和郎氏  
日本赤十字社医療センター血液内科 阿部 有氏  
株式会社メディネット先端医学研究所 贄田美江氏  
東京女子医科大学泌尿器科 小林博人氏  
浜松医科大学皮膚科 瀬尾尚宏氏  
千葉県がんセンター診療部長 木村秀樹氏  
名古屋大学附属病院光学医療診療部講師 廣岡芳樹氏

### 特別講演「癌免疫の新戦略」

司会 東京大学名誉教授 江川滉二氏

演者 順天堂大学免疫学教授 奥村 康氏



近年、早期癌に対する外科および放射線療法は多くの成果をあげており、既に完治を目標とする時代となっている。一方、進行癌に対する化学療法は副作用などの問題もあり、免疫治療、なかでも免疫細胞療法の進歩への関心が高まっている。

シンポジウム「癌の免疫抑制機構～現状と課題～」では、本分野の第一人者による興味深い講演が行われ、免疫細胞療法の研究とその適用に関する最新の知見が報告された。

なお、司会は九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学教授の片野光男氏、および京都大学名誉教授の和田洋巳氏が務めた。

### シンポジウム1 担癌生体における新しい免疫抑制機構の解明

北海道大学遺伝子病制御研究所免疫制御分野教授 西村孝司氏

北海道大学遺伝子病制御研究所免疫制御分野教授の西村孝司氏は、癌患者の生体内での免疫抑制機構に関する最新のトピックスについて概説した。



西村孝司氏

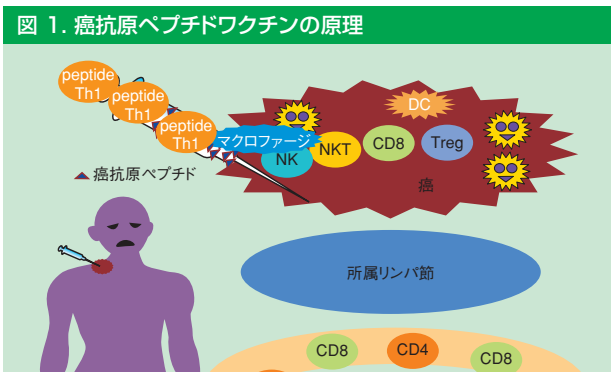
#### 免疫抑制機構を打破するには

#### タイプ1免疫を活性化させることが重要

癌の免疫治療は、ヘルパーT細胞(Th)サブセットであるTh1とTh2のバランスを操作することでほぼ目標を達成できるものと従来は考えられていた。ところが近年、Th17と呼ばれるT細胞サブセットがインターロイキン17(IL-17)を産生することで免疫バランスの調節に新たなパラダイムを与えていることが判明した。

最近明らかにされた免疫抑制機構のうち、腫瘍局所における免疫抑制機構に関与するものとして、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>制御性T細胞(Treg)が存在する。マウスを用いた実験でanti-CD25mAbを投与しあらかじめTregを排除したところ、線維肉芽腫では腫瘍が拒絶される一方で、扁平上皮癌では腫瘍の拒絶は困難であった。これは扁平上皮癌において、異なったTregの作用またはTreg以外の免疫抑制機構が存在することを示しているものと考えられる。

Treg以外の免疫抑制機構として、CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>骨髄由来抑制細胞



(西村孝司氏提供)

(MDSC)が腫瘍局所において強力な免疫抑制能を獲得すること、またIL-17産生 $\gamma\delta$ T細胞( $\gamma\delta$ T)がIL-17を介して腫瘍内への血管新生を促し、腫瘍増殖を促進することも明らかになってきた。

西村氏は、このように複雑な担癌生体の免疫抑制機構に打ち勝つためには、タイプ1免疫を活性化させることが重要であり、なかでも癌特異的CTLの誘導を増強しTregを抑制する作用を持つTh1細胞を用いた治療が効果的であると示した。さらにそれを目的として、Th1細胞と癌抗原ペプチドを組み合わせたワクチン治療を開発し、近く臨床応用に入ることを明らかにした(図1)。

### シンポジウム2 担癌状態におけるNKT細胞機能の抑制とその解除

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター  
生体機能制御研究部門部門長・准教授 清野研一郎氏

聖マリアンナ医科大学難病治療研究センター生体機能制御研究部門部門長・准教授の清野研一郎氏は、担癌状態においてNKT細胞の抑制が起こるメカニズムと、その抑制を解除する方策について解説した。



清野研一郎氏

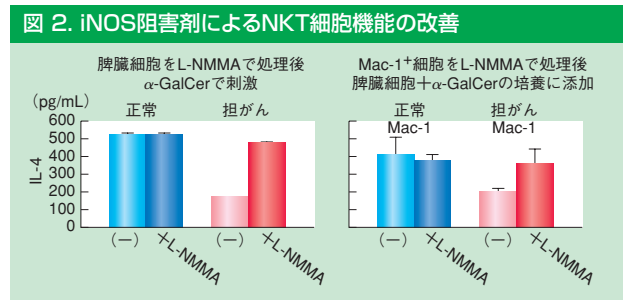
#### 担癌状態でのNKT細胞機能低下はCD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>細胞の作用か

NKT細胞は、NK細胞の性質を持つTリンパ球であり、腫瘍拒絶、感染防御、自己免疫発症、アレルギー反応などの機能を持っている。NKT細胞が抗腫瘍効果を発揮するにあたり認識する代表的な脂質抗原は $\alpha$ -galactosylceramide( $\alpha$ -GalCer)であり、マウスにおいても $\alpha$ -GalCerをパルスした樹状細胞の投与によって、実験的腫瘍の治療が可能であることが報告されている。

清野氏は以前、ヒト担癌患者において、 $\alpha$ -GalCerに対する増殖能、サイトカイン産生能が低下していることを示した(Yanagisawa K et al: J Immunol 168: 6494-6499, 2002)。今回、NKT細胞機能低下の原因を調べるため、担癌マウスを用いて実験を行ったところ、やはり $\alpha$ -GalCerによるNKT細胞の増殖能、細胞傷害能、サイトカイン産生能、そして肺転移の抑制効果が低下していることが判明した。

その原因を調べたところ、担癌マウス生体内ではCD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>細胞が増加しており、担癌マウス由来CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>細胞がNKT細胞からのサイトカイン産生を抑制したことから、CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>細胞が関与しているものと考えられた。

抑制されたNKT細胞機能は、iNOS(一酸化窒素合成酵素)阻害剤であるL-NMMAで処理すると改善されることから、抑制はNO(一酸化窒素)を介したものと考えられる(図2)。またレチノイン酸を担癌マウスに投与しCD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup>細胞の分化を誘導すると、NKT細胞の産生能は復活し、肺転移抑制効果も改善したと報告した(Yanagisawa K et al: Cancer Res 66: 11441-11446, 2006)。



(Yanagisawa et al: Cancer Res 66, 2006)

CD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性T細胞と腫瘍免疫

京都大学再生医学研究所生体機能調節学分野 山口智之氏

京都大学再生医学研究所生体機能調節学分野の山口智之氏は、免疫自己寛容の維持に重要なCD25<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>制御性T細胞 (Treg) と腫瘍免疫との関係について報告した。

Tregを活性化T細胞と区別して除き  
腫瘍免疫を効率よく増強

Tregは自己抗原に対する免疫応答の抑制に関与しているが、そのほかにもアレルギー、腫瘍免疫、臓器移植、感染症免疫等を抑制的に制御している。TregはCD25陽性であることが特徴であるが、一方CD25は活性化T細胞でも発現するため、Tregと活性化T細胞を区別できるマーカーをスクリーニングしたところ、山口氏は4型葉酸受容体(FR4)を同定し、FR4に対する抗体を用いることで、抗原刺激前後のいずれにおいても、Tregを活性化T細胞と区別することが可能になったという。

次にFR4抗体とCD25抗体を用いて、抗原刺激後のマウスT細胞群からTregのみを分離すると、その細胞群は刺激前のTregに比べ、皮膚移植のモデルで皮膚生着を有意に延長させることができた。

山口氏は、腫瘍免疫療法への応用を想定し、腫瘍抗原で刺激後のマウス細胞群からTreg分画のみを除いたところ、腫瘍への免疫応答が亢進し、マウスの生存率も改善した(図3)。

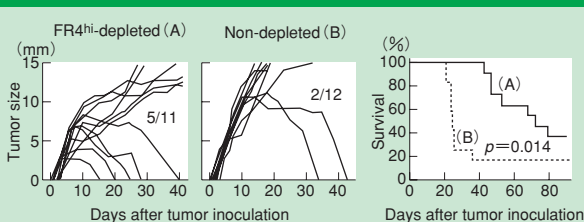
またマウスにFR4抗体(TH6)を投与することによりTregを1/5程度にまで減らすことが可能であり、腫瘍接種マウスへのFR4抗体投与は、生着した腫瘍に対しても半数以上で腫瘍拒絶を誘導するなど、治療効果が認められた。

以上の結果から、山口氏は、腫瘍抗原などによる免疫刺激は、活性化T細胞を誘導するばかりか、特異的に強い抑制活性を持つTregを増やすことがあり、Tregと活性化T細胞を区別して除くことにより、腫瘍免疫を効率的に増強できるものと考えられるとし、講演を締めくくった。



山口智之氏

図3. Tregの特異的除去による腫瘍免疫の増強



腫瘍抗原で刺激したリンパ球からFR4高発現細胞を除去した群(A)では、腫瘍増殖を抑制半数で腫瘍拒絶2匹/11匹は体重減少し死亡

(Yamaguchi T et al: Immunity 27: 145-159, 2007より改変)

## 腫瘍免疫と制御性T細胞

九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学教授 片野光男氏

九州大学大学院医学研究院腫瘍制御学教授の片野光男氏は、腫瘍免疫とTreg細胞の関係、とくに片野氏らのグループが取り組んでいる癌抗原ペプチドによるワクチン療法におけるTregの意義に

ついて解説した。

治療前Treg細胞比は  
治療効果予測因子となる可能性がある

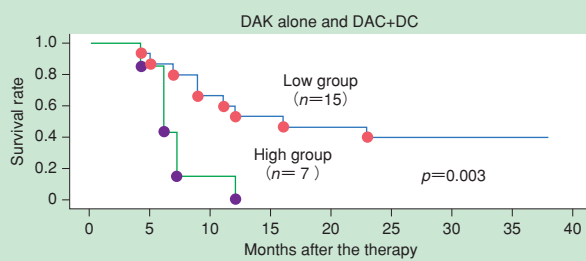
樹状細胞(DC:DC vaccine)および自己腫瘍パルスDC刺激リンパ球(DAK:DC-activated lymphocytes)を用いたDC+DAK療法施行中の進行癌患者を対象とし、CD25高発現(CD25<sup>high</sup>)あるいはFoxp3<sup>+</sup>発現CD4<sup>+</sup>T細胞をTregと評価し、その動態を末梢血により解析したところ、長期生存群では短期生存群より、治療前のTreg比が有意に低かった(図4)。

次に大腸癌患者の腫瘍組織浸潤Foxp3<sup>+</sup>細胞およびCD8<sup>+</sup>T細胞を解析し、術後無再発生存期間を比較したところ、CD8<sup>+</sup>T細胞/Foxp3<sup>+</sup>細胞比の高い群では、低い群に比べて延長していた。

癌性胸腹水中では、著明なTreg増加が認められるが、癌性腹水なしで培養すると数日中にTreg細胞比は急速に減少する。しかし、腹水の分子量10万以上の分画を添加すると自己PBMC中のTreg細胞比減少が抑制されることから、この分画中にTreg生存性を促進する物質の存在が示唆された。この物質の有力な候補としてはExosomeが考えられる。

最後に片野氏は、以下のように総括し、報告をまとめた。

- ・進行癌末梢血および癌性胸腹水中ではTreg細胞比が高い。
- ・免疫細胞療法施行中に末梢血Treg細胞比は変化し、治療前Treg細胞比は治療効果予測因子となる可能性がある。
- ・大腸癌組織におけるCD8<sup>+</sup>T細胞/Foxp3<sup>+</sup>細胞比は、無再発生存期間の予測因子となる可能性がある。
- ・大腸癌局所でのTGF- $\beta$ 産生がTreg細胞増加に関与している可能性がある。
- ・癌性胸腹水中でのTreg細胞維持に癌性腹水中のExosomeが関与している可能性がある。
- ・原因か結果かは不明であるが、Treg細胞は免疫細胞療法に対する負の因子として働いている可能性が高い。

図4. 免疫細胞療法施行患者における  
治療前Treg細胞比と治療後生存期間

(片野光男氏提供)

## 総合討論

シンポジウムを引き継いで、総合討論が行われた。

清野氏 IL-17産生 $\gamma\delta$ 17がIL-17を介して腫瘍内への血管新生を促し、腫瘍増殖を促進するというのは興味深いのですが、その抗原特異性はどうなっているのでしょうか。

西村氏  $\gamma\delta$ 17が皮膚の感染初期に、ある微生物の抗原を認識するという報告もありますので、 $\gamma\delta$ 17のブロードな癌抗原も含めて認識している可能性があるかと予想しております。

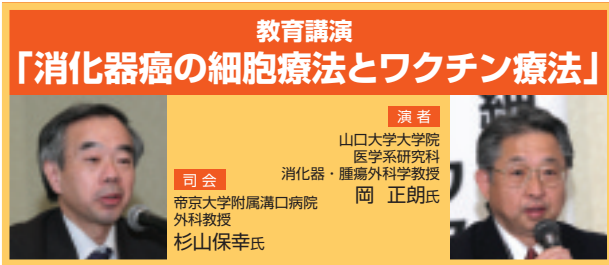
(フロアより) Tregが癌組織内や所属リンパ節に多く浸潤しているメカニズムは何ですか。

山口氏 癌組織およびその周囲からのケモカインが重要と考えられます。TregはCCR4, 5, 6などのケモカイン受容体を発現していますので、ケモカインによって呼び寄せられている形です。ほかにはTregにはCD103などの接着因子も高発現しており、組織へ

の浸潤に重要です。ただし、Tregが優先的に浸潤するメカニズムは不明です。

清野氏 放射線の照射に関してですが、NKT細胞は死にくいことが知られており、非常に壊れにくく、活性化後細胞死を起こさせようとしても、NKT細胞は残っており、Tregも残る傾向にあります。

和田氏 本日は有意義なご討議をありがとうございました。



山口大学では先進医療として膵癌および胆道癌に対する活性化リンパ球移入療法が承認され、附属病院内に設けられたGMP準拠のバイオクリーンルームを駆使して症例を蓄積している。山口大学大学院医学系研究科消化器・腫瘍外科学教授の岡正朗氏は膵癌に対する細胞療法ならびに大腸癌に対するワクチン療法の成績を示し、消化器癌免疫療法の将来を展望した。

**膵癌切除不能・再発20例中CR 1例, SD 5例**

MUC1は膵癌および胆道癌に発現するムチンコア蛋白の1種であり、ヒト白血球抗原(HLA)に拘束されず、細胞傷害性T細胞(CTL)の誘導に自己腫瘍を必要としないため、切除不能膵癌に広く適応できる利点がある。

岡氏らは基礎的検討を経て、膵癌切除不能・再発例を対象にMUC1を認識するCTLによる術後補助療法(MUC1-CTL療法)を施行、治癒切除後の明らかな肝転移抑制を認めたことから先進医療に申請し、2003年11月に承認された。

膵癌切除例にMUC1-CTL療法を施行した33例の成績は再発なし11例、肝再発4例、局所再発18例、腹膜・リンパ節再発各5例、肺・骨再発各3例と肝再発がきわめて少なく、1年・2年・3年生存率は78.6%、25.7%、19.3%、5年生存率は19.3%であった。重篤な副作用は認められていない(図5)。

一方、岡氏らは、膵癌切除不能・再発例20例に対し、MUC1-CTL静注+MUC1ペプチドで刺激した樹状細胞の大腿皮下投与(MUC1-DC療法)を施行し、生存期間は2か月から75か月、CR 1例、SD 5例を認めた(表1)。CRを認めた1例は術後多発肺転移を生じていたが、現在も無再発生存中である。重篤な副作用はなく、外来で投与可能であった。

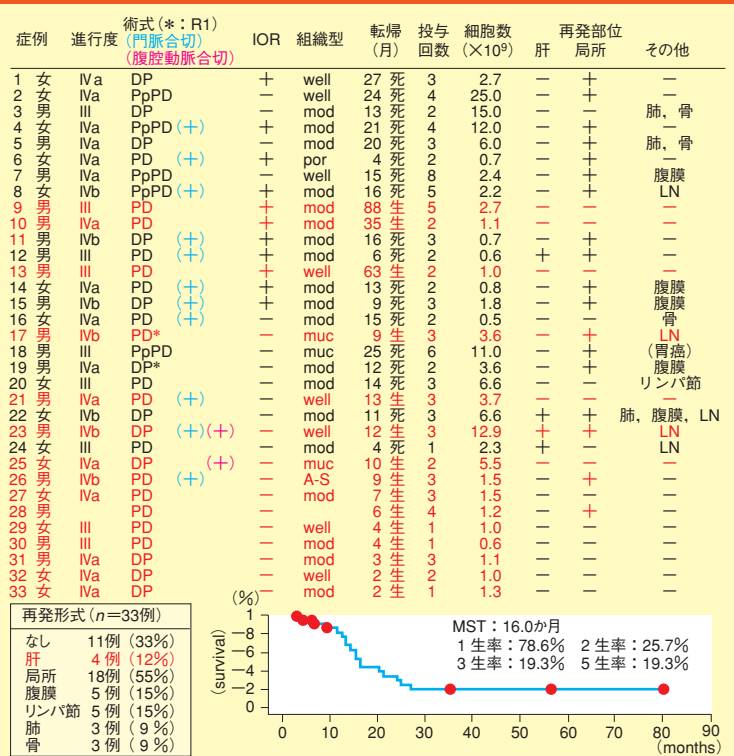
癌ワクチン療法については、HLA-A\*2402を有する治癒切除不能・再発大腸癌患者14例を対象に、大腸癌に高発現するRNF43, TOMM34, KOC1および腫瘍新生血管に高発現するVEGFR1, VEGFR2の5種類のペプチドを併用する第I相試験を行っている。その結果、CR 1例、SD 4例を認め、重篤な副作用はなかった。

なお、岡氏は免疫療法の課題として免疫逃避機構を示し、腫瘍側因子としてはHLA Class Iの発現低下、Fas-ligandの発現、抑制性サイトカインの産生、宿主因子としてはTh1・

Th2アンバランス, regulatory T cell (Treg)の克服が重要だと指摘した。また、細胞性免疫をほとんど抑制しない抗癌剤としてジェムザール(Tregも抑制)、オキザリプラチンを挙げ、CPT-11, タキソテール, 5FUの低用量投与も免疫抑制を来すことが少ないと指摘した。

以上のことから、岡氏は「消化器癌の切除可能例に対する手術+免疫療法、切除不能・再発例に対する免疫療法+化学療法などの併用療法と免疫療法の個別化が将来の癌治療の一翼を担うものと期待している」と述べた。

図5. CTL群の治療成績(2006.9)

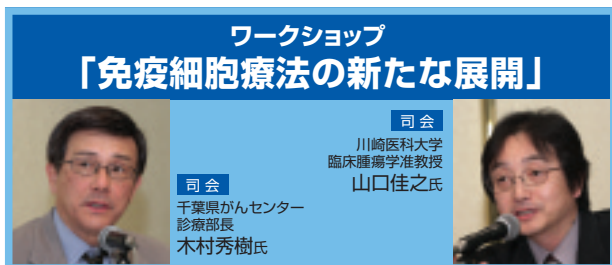


(岡正朗氏提供)

表1. MUC1-CTL+MUC1-DCを投与した切除不能・再発膵癌20例

NO.	Age	Sex	HLA-A	Stage	Location of distant metastasis	Total number of CTLs( $\times 10^9$ )	Total number of DCs( $\times 10^7$ )	Clinical response	Survival
1	52	F	24/26	IV	liver	5.7	31	SD(3M)	12M
2	63	M	02/31	IV	lung	3.2	15	CR	7.5M
3	63	M	24/-	IV	liver	1.9	7.1	PD	2M
4	64	M	02/26	IV	liver	0.8	3.4	PD	2M
5	57	M	24/02	IV	peritoneum	0.9	4.3	PD	3M
6	58	M	11/31	IV	liver	0.7	4	PD	4M
7	73	M	02/-	IV	liver, peritoneum	0.6	4.4	PD	3M
8	84	M	24/26	IV	liver	1.1	6.4	SD(2M)	11M
9	63	M	11/31	IV	bone, liver	1	6	PD	6M
10	58	M	02/31	III	-	4	1.1	PD	5M
11	51	M	02/-	IV	liver	6.8	5.2	PD	3M
12	57	F	unknown	III	Lymph node	4.7	17	SD(17M)	24M
13	58	F	02/31	III	-	4	11	PD	5M
14	51	F	02/-	IV	liver	0.7	5.2	SD(2M)	12M
15	73	F	33/-	IV	liver	0.5	4.5	PD	2M
16	58	M	02/33	III	-	1.3	11	PD	9M
17	67	F	24/-	IV	liver, peritoneum, bone, brain	1.8	12.1	PD	5M
18	66	M	11/24	IV	-	1.2	4.9	PD	4M
19	68	M	11/24	III	peritoneum	1.5	6	SD(2M)	6M
20	63	M	24/26	IV	peritoneum	1.8	5.3	PD	2M

(岡正朗氏提供)



免疫細胞療法は、体外で培養・加工して強力に活性化させたり、新しい機能を付加させた患者自己免疫細胞を再び体内に戻し、癌細胞の増殖を抑える治療法である。本質的に副作用がなくQuality of Lifeを維持しながら治療することが可能な全身療法であり、外科療法、化学療法、放射線療法に続く第4の癌治療法として、大きな期待を集めている。ワークショップ「免疫細胞療法の新たな展開」では、8名の演者から最新の知見が報告され、癌治療の選択肢の広がりが期待される見解が示された。

なお、前半4演題の司会は千葉県がんセンター診療部長の木村秀樹氏が、後半4演題の司会は川崎医科大学臨床腫瘍学准教授の山口佳之氏が、それぞれ務めた。

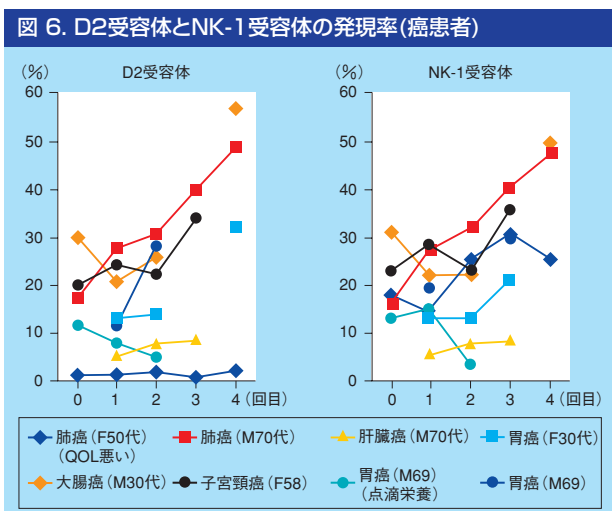


活性化自己リンパ球療法は、化学療法の副作用である嘔吐を軽減し、QOL向上に寄与している可能性が考えられている。医療法人さわらび会福祉村病院長寿医学研究所の石黒雅江氏は、活性化自己リンパ球膜上のドパミン(D2)受容体、サブスタンスP(NK-1)受容体数を測定し、これらの受容体がドパミン・NK-1と結合して嘔吐中枢の作用を軽減しているとの仮説を検証した。

#### QOL改善例ではD2受容体数、NK-1受容体数が増加

石黒氏は、癌患者、非担癌者における活性化自己リンパ球膜上のD2受容体、NK-1受容体をフローサイトメトリーにより測定した。

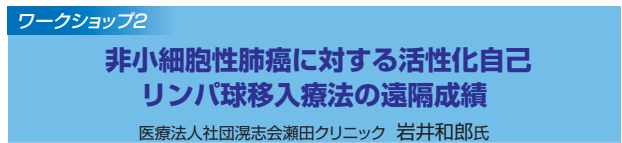
その結果、癌患者のQOL改善例では、培養日数の増加に伴いD2



(石黒雅江氏提供)

受容体が増加したのに対し、QOL不変例では、D2受容体数が低値で推移する傾向がみられた(図6)。NK-1受容体についても同様の傾向で、QOL改善例では増加傾向が示された。QOL不変例ではD2受容体は低値であったが、NK-1受容体には増加が認められた。一方、非担癌者では、いずれの受容体も減少傾向がみられた。

石黒氏は「今回は、嘔吐について検討したが、QOL向上には抗うつ作用も関与している可能性がある」と新たな可能性に言及し、講演を終えた。



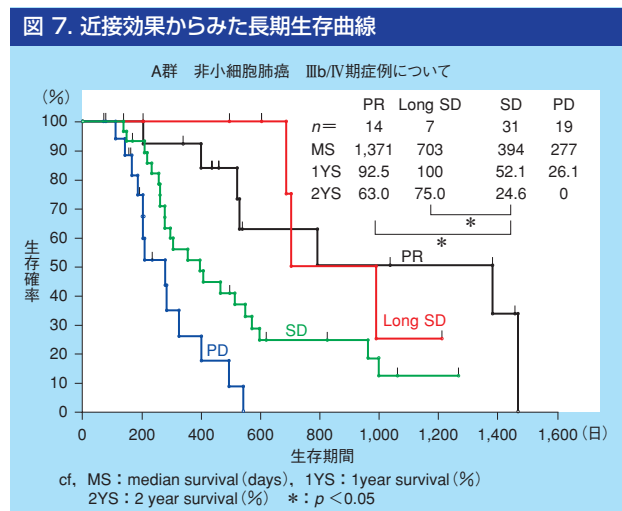
癌に対する免疫細胞療法については、近接効果は報告されているものの、遠隔成績の報告は乏しいのが現状である。医療法人社団混志会瀬田クリニックの岩井和郎氏は、局所的根治療法が不可能な非小細胞肺癌に対する活性化自己リンパ球移入療法の遠隔成績を検討し、これにより生存に関する良好な成績が得られたことを報告した。

#### 長期予後を改善する可能性がある 活性化自己リンパ球移入療法

岩井氏は、初回治療中に活性化自己リンパ球移入療法を行ったⅢb/Ⅳ期の非小細胞肺癌症例を対象とし、解析を行った。

抗癌剤併用有無による生存曲線の比較では、有意差はみられなかったものの、抗癌剤併用群のほうが生存率は高い傾向であった。点滴回数別の検討では、25回以上の群の生存率が、それ未満の群と比べて有意に高かった。近接効果との関連では、PRとSDとの間のみならず、SDとLongSDとの間にも有意差が認められ、LongSD長期予後効果の指標となりうる事が示唆された(図7)。来院時PS 0/1症例の生存期間中央値は、免疫療法のみでは15.2か月、化学療法併用群では17.2か月で、ほかの文献の報告と比較して良好な成績が示された。

以上の成績から、岩井氏は、「免疫細胞療法は長期予後を改善する可能性がある」と結論した。



(岩井和郎氏提供)

## ワークショップ3

### ゾレドロネートで活性化させた $\gamma\delta$ T細胞を用いた 免疫細胞療法の多発性骨髄腫に対するPilot study ～Study designおよび臨床成績～ 日本赤十字社医療センター血液内科 阿部 有氏

多発性骨髄腫は、導入化学療法により寛解が得られるものの、その後は化学療法を継続しても寛解と再発を繰り返し、予後は不良である。日本赤十字社医療センター血液内科の阿部有氏は、多発性骨髄腫の化学療法後における病状の安定化を目的に $\gamma\delta$ T細胞を投与するPilot Studyを施行し、M蛋白の安定化など腫瘍制御効果が認められたことを報告した。



阿部 有氏

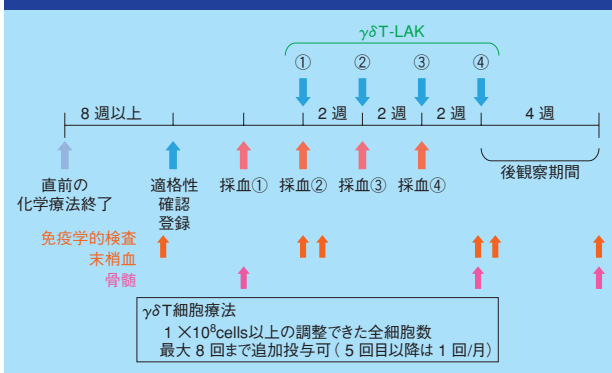
#### $\gamma\delta$ T細胞投与により6例中4例でM蛋白が安定化

阿部氏は、多発性骨髄腫6例を対象とした単群オープン探索的臨床研究を実施した。 $\gamma\delta$ T細胞は、患者から採取したリンパ球をゾレドロネート、IL-2で活性化・増殖させ調整し、対象には、 $\gamma\delta$ T細胞を2週間間隔で4回投与した。4回投与後、治療効果が見込めた症例については4週間間隔で最大4回まで追加投与した(図8)。

$\gamma\delta$ T細胞療法との因果関係が否定できない主な有害事象として、発熱、掻痒感、疲労がみられたが重篤な有害事象は認められず、安全性が確認された。また、6例中4例にM蛋白の安定化を認めた。

以上、阿部氏は「今回のPilot Studyで6例中4例でM蛋白の安定化が認められ、安全性も確認された。化学療法後の寛解維持において $\gamma\delta$ T細胞が有効となる可能性があり、さらに症例数を増やして検討したい」と抱負を述べた。

図8. 研究スケジュール



## ワークショップ4

### ゾレドロネートで活性化させた $\gamma\delta$ T細胞を用いた 免疫細胞療法の多発性骨髄腫に対するPilot study ～免疫学的モニタリング～ 株式会社メディネット先端医学研究所 費田美江氏

免疫細胞療法においては、抗腫瘍効果の指標として免疫学的モニタリングが重要視されている。株式会社メディネット先端医学研究所の費田美江氏は、前演題と同じPilot studyにおいて免疫学的モニタリングを実施し、effector/memory  $\gamma\delta$ T細胞、血清中IFN- $\gamma$ 等が増加したことを報告した。

#### 抗腫瘍免疫に関係するeffector/memory

#### $\gamma\delta$ T細胞の割合が増加

免疫学的モニタリングの結果、多発性骨髄腫患者において低値

であった $\gamma\delta$ T細胞の割合は、 $\gamma\delta$ T-LAK投与後に上昇し、健康人のレベルに到達した。また、M蛋白のレベルに関係なく、すべての患者で $\gamma\delta$ T-LAK投与後、末梢血中および骨髄中のeffector/memory  $\gamma\delta$ T細胞の割合が増加した。さらに、血清中のIFN- $\gamma$ 、末梢血中 $\gamma\delta$ T細胞表面上の活性化型NK受容体(NKG2D)の発現にも増加が認められた。

M蛋白が増加した2例では、血清中にsoluble MICA(NKG2Dリガンド)が検出された。費田氏は「soluble MICAが $\gamma\delta$ T-LAKによる骨髄腫細胞の殺傷を阻害し、M蛋白が上昇したと考えられる」と述べ、「soluble MICAが検出されない患者を対象とした場合、より高い確率でM蛋白の安定化または減少がもたらされると考える」とまとめた。

## ワークショップ5

### ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞—基礎と臨床応用—

東京女子医科大学泌尿器科 小林博人氏

ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞は、初期感染免疫に重要な役割を果たすほか、腫瘍免疫への関与も示唆されている。東京女子医科大学泌尿器科の小林博人氏は、ヒト $\gamma\delta$ 型T細胞を基礎・臨床の両面から検討し、 $\gamma\delta$ 型T細胞の抗原認識部位の特定、活性化物質の合成などの*in vitro*成績とともに、 $\gamma\delta$ 型T細胞の臨床効果について報告した。



小林博人氏

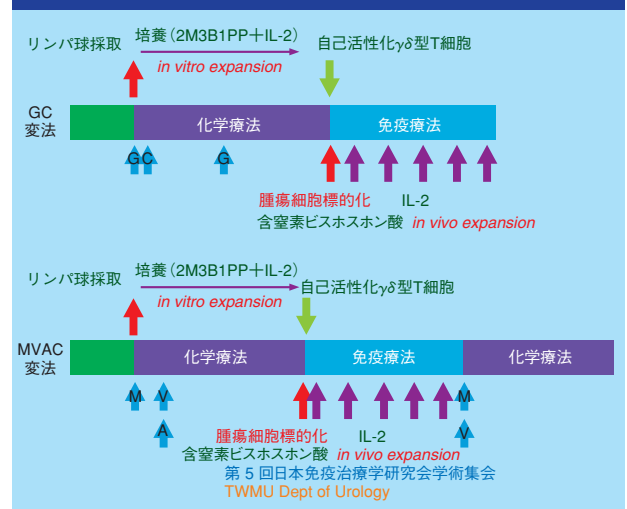
#### 免疫細胞療法としての有用性が期待されるヒト $\gamma\delta$ 型T細胞

小林氏は、 $\gamma\delta$ 型T細胞受容体のどの部分が非ペプチド性抗原を認識するかを検討し、認識に関与するアミノ酸残基を特定した。また、約60種のピロリン酸モノエステル化合物を合成し、2-メチル-3-ブチニル-1-ピロリン酸(2M3B1PP)の活性化効果が最も高いことを明らかにした。

肝転移を有する腎癌患者に対しては、10日間培養した $\gamma\delta$ 型T細胞6.5×10<sup>6</sup>個を細胞移入し、140万単位のIL-2を5日間投与する臨床プロトコルを考案。6回投与により転移が消失した症例を提示した。さらに尿路上皮癌患者に対しては、GC変法、MVAC変法と $\gamma\delta$ 型T細胞、IL-2の併用レジメを考案し(図9)、 $\gamma\delta$ 型T細胞の増加、転移腫瘍の縮小効果を認めたことを報告した。

小林氏は「 $\gamma\delta$ 型T細胞は研究開始から日が浅いものの、臨床応用への可能性は大きい」と期待を示した。

図9. 化学免疫療法のレジメ



(小林博人、藤井寿一ほか: 細胞療法・再生医療のための細胞プロセッシング, 146-219, 2007)

## ワークショップ6

### わが国初の経皮的な抗原塗布によるメラノーマ免疫治療を実施してきた当科の基礎研究部門統括者として感じること

浜松医科大学皮膚科 瀬尾尚宏氏

現在行われている癌の樹状細胞免疫治療法は、癌抗原パルスや癌細胞融合を施した培養樹状細胞を用いるなど、煩雑な手技が必要とされている。浜松医科大学皮膚科の瀬尾尚宏氏は、より簡便な経皮ペプチド免疫療法(PPI)を開発し、メラノーマに対する有効性・安全性を確認、報告した。



瀬尾尚宏氏

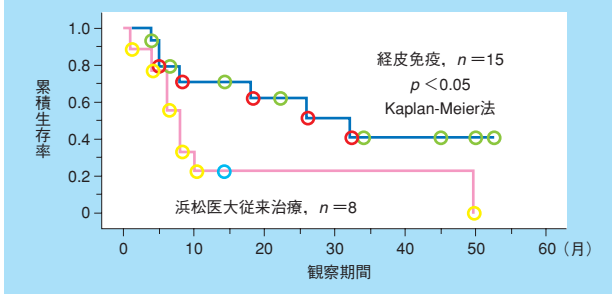
#### 簡便で、有用性が高い経皮ペプチド免疫療法

角質層を粘着テープで剥離すると、表皮にあるランゲルハンス細胞が活性化され、約4割がリンパ節に移行する。瀬尾氏は、この現象に着目し、角質層を剥離した皮膚にペプチドを貼付することで、強力な細胞傷害性Tリンパ球(CTL)反応を誘導する、簡便で非侵襲的な治療法を開発した。実際の方法としては、角質層をテープで剥離し、その部位にメラノーマのペプチドを塗布する処置を3~4週おきに行い、7回を1ラウンドとした。

その結果、末梢血において抗原ペプチド特異的なCTLが誘導され、メラノーマの著しい縮小とリンパ節や骨への転移の消失が認められた。病期IVにおけるPPIと従来治療(外科治療+化学療法)の比較では、PPIのほうが、累積生存率が明らかに高い成績が示された(図10)。

瀬尾氏は、「PPIは、リンパ球の所属リンパ節での活性化から全身循環と腫瘍浸潤を達成しうる、免疫抑制を受けにくい自然の流れに乗った癌治療法だと考えられる」と述べ、講演を締めくくった。

図10. 累積生存率曲線-病期IVにおけるPPIと従来治療との比較-



[Yag H et al: Cancer Res 66 (20): 10136-10144, 2006]

## ワークショップ7

### 原発性肺癌に対する術後Adjuvant免疫療法: 所属リンパ節由来の樹状細胞と活性化リンパ球を用いて

千葉県がんセンター診療部長 木村秀樹氏

肺癌治療のなかで最も有効なのは外科的切除であるが、リンパ節転移を伴うN2症例の5年生存率は20%と不良であり、新しい治療法の開発が望まれている。千葉県がんセンター診療部長の木村秀樹氏は、所属リンパ節由来の樹状細胞と活性化リンパ球を用いた原発性肺癌に対する術後Adjuvant免疫療法の第II相試験を実施し、術後生存率が改善したことを報告した。

#### 術後Adjuvant免疫療法群の術後生存率は56.5%

木村氏は、転移のないリンパ節と末梢血を混合培養し、2か月に1度、抗がん剤治療の後に投与する術後Adjuvant免疫療法の

第II相試験を実施した。免疫療法群(免疫療法+化学療法)は28例、化学療法(対照)群は29例であり、術後生存率は、免疫療法群が56.5%、化学療法群は12.5%であった(図11)。

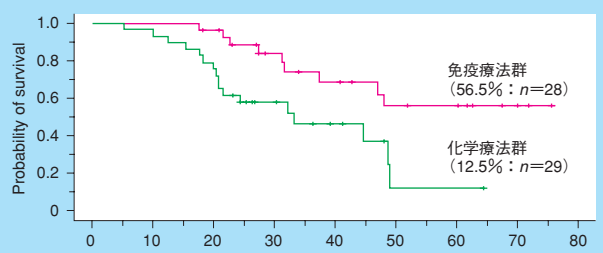
症例別の検討では、ステージIIIaの術後再発において腫瘍部位の癒着化がみられた例や、腹水が改善した例などが報告された。腹水の改善例では、腹水由来リンパ球の自己腫瘍に対する細胞傷害活性の上昇、癌細胞数の減少などが認められた。

木村氏は、「所属リンパ節には、抗腫瘍効果を有するキラー細胞と樹状細胞が豊富に存在し、これらにより高い効果が得られる」とまとめた。



木村秀樹氏

図11. 術後生存率



(木村秀樹氏提供)

## ワークショップ8

### 切除不能局所進行肺癌に対するGEM併用免疫細胞療法の有用性

名古屋大学附属病院光学医療診療部講師 廣岡芳樹氏

免疫細胞療法を一次治療として評価した報告は、現在までほとんどされていない。今回、名古屋大学附属病院光学医療診療部の廣岡芳樹氏は、切除不能局所進行肺癌を対象に、超音波内視鏡ガイド下穿刺(EUS-FNA)を用いた化学療法併用免疫細胞療法を一次治療として行う第I相試験を施行し、良好な成績が得られたことを報告した。

#### 自己樹状細胞腫瘍内局注療法・

#### 活性化自己リンパ球静注療法と化学療法の併用は有用

廣岡氏は、免疫細胞療法として、自己樹状細胞腫瘍内局注療法と活性化自己リンパ球静注療法を行った。対象は、46~70歳の合計5例であった。ゲムシタビン(GEM)+免疫細胞療法は、2週ごとに6回繰り返された。

化学療法併用免疫細胞療法との関連が否定できないGrade3以上の重篤な有害事象は認めなかった。5例中1例がPR、2例がLongSDとなり、PRの症例5は、治癒切除が可能となった(表2)。

表2. 治療成績

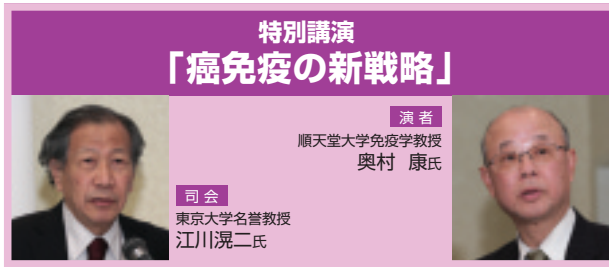
症例	無増悪期間 (日)	生存期間 (日)	抗腫瘍効果	経過
1	74	278	PD	1コース後に肝転移出現
2	260	609	SD	15コース後肝転移出現
3	344	478	SD	16コース後原発巣増大
4	114	415	PD	4コース後原発巣増大
5	554	762	PR	16コース後手術施行

(廣岡芳樹氏提供)

さらに症例5では、腫瘍組織を用いた免疫学的検討により、免疫細胞療法施行後に腫瘍特異的な免疫応答を確認した。

廣岡氏は、「切除不能局所進行膵癌に対するゲムシタビンによる

化学療法とEUS-FNAを用いた自己樹状細胞局注療法と活性化自己リンパ球静注療法の併用は、安全に施行でき、相乗効果を得ることができた」と結論し、すでに第Ⅱ相試験が進行中であると報告した。



特別講演では、順天堂大学免疫学教授の奥村康氏が、サプレッサーT細胞の発見に至った経緯、NK細胞をめぐる一連の研究などを振り返るとともに、癌細胞にアポトーシスを来すモノクローナル抗体を用いたカクテル療法の可能性について展望した。

### モノクローナル抗体のカクテル療法で 握りこぶし大の腫瘍を消失

奥村氏は、千葉大学病理学講座で、米国留学から帰国した多田富雄氏に師事し、発見間もないヘルパーT細胞の存在を確認する追試の過程でほかのリンパ球に活性を抑えるサプレッサーT細胞の存在を認めることになる。

その後、奥村氏は米国スタンフォード大学のヘルツェンバーグ教授のもと、セルソーターを用いてこれら2種類のT細胞の存在を明らかにした。表面分子の特徴からヘルパーT細胞はCD4T細胞、サプレッサーT細胞はCD8T細胞と呼ばれているが、今日ではCD4のサプレッサーT細胞、CD8のヘルパーT細胞の存在も知られている。

当時、ノーベル賞受賞者のバーネットはT細胞が癌細胞を監視して抑制するという仮説を提唱していたが、先天的に胸腺を持たず、したがってT細胞をつくれなはずのヌードマウスの発癌率が低いことから省みられなくなっていた。

奥村氏は留学中にヌードマウスのリンパ球と癌細胞を混ぜると癌細胞が溶けるという現象に注目し、やがて、このリンパ球はNK細胞と名付けられ、奥村氏らのグループが見つけたNK細胞に特異的な抗体をヌードマウスに投与すると発癌率が上昇することが解明され一大センセーションを呼んだ。

一方、免疫抑制剤を投与された動物では、T細胞が抗原を認識しながらも痺れて身動きがとれない状態（アナージー）となる。このとき、CD28を介してT細胞を目覚

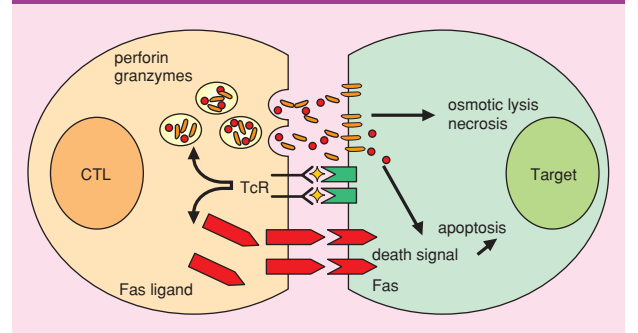
めさせるのが接着分子B7、B70であり、B70を癌細胞に強制発現させたマウスでは癌細胞が退縮することがわかっている。

帰国後、順天堂大学に移った奥村氏の研究室では、NK細胞が癌細胞などの標的細胞に穴をあけ、細胞死を来す分子としてパーフォリンが見出された(図12)。その後、NK細胞が標的細胞に毒性を示し、アポトーシスを来す分子としてFas ligand、TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand)が発見されている。

現在、同教室の竹田准教授を中心にTRAIL同様のアポトーシス誘導作用を示すMD5-1 (anti-DR5mAb)、TNFRファミリーのCD40、4-1BB (CD137)の抗体を併用した、いわばモノクローナル抗体のカクテル療法としてtrimAb(図13)の基礎研究が進展しており、近い将来の臨床研究を旨として研究が進められている。

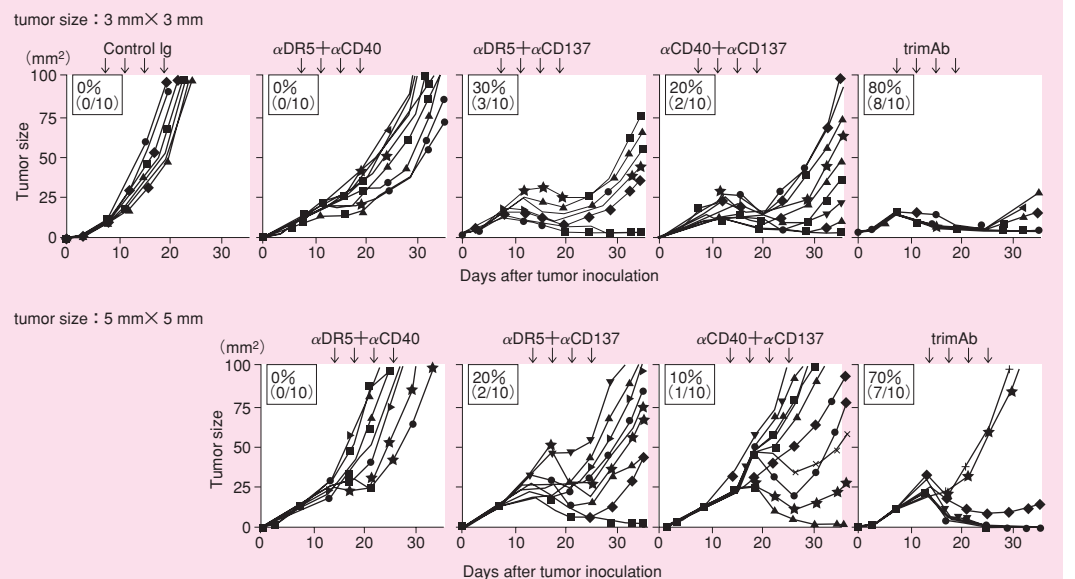
奥村氏は「trimAbを用いた動物実験では、これまでのところヒトに対比すると握りこぶし大に相当する癌細胞を注射だけで消失する効果を認めており、今後、癌免疫の新戦略となることが期待される」と述べ、講演を締めくくった。

図12. CTLの標的融解メカニズム



(奥村康氏提供)

図13. trimAbの治療効果



(奥村康氏提供)