

第4回日本免疫治療学研究会学術集会

Cell Transfer Therapy

治療成績向上に向けて

日本免疫治療学研究会は、がんなどの難治性疾患に対する免疫療法の健全な育成と普及を目指して設立された。2007年2月10日（土）、第4回となる同研究会主催の学術集会は、江川 澁二会長による開会の挨拶とともに新横浜プリンスホテルで開催された。

Workshop ワークショップ

午前中に行われたワークショップでは、「臨床治療実績と今後の展望」と「免疫細胞療法の新たな展開」2つのテーマに分かれて、免疫細胞療法を実施しているクリニックなどから現状報告があった。

「免疫細胞療法の新たな展開」のセッションでは、まず賛田美江氏（株式会社メディネット 先端医学研究所）が「腫瘍抗原とZoledronate共感作樹状細胞による活性化 γ δ T細胞を介しての腫瘍抗原特異的CD8⁺T細胞の誘導上昇」と題する発表を行った。同社では現在、より多くの腫瘍抗原特異的なCTLを誘導するとともに、MHCクラスIを発現していない腫瘍も殺傷することができるDCの開発を進めている。Zoledronateと腫瘍抗原をDCに共感作することで、CTLの誘導が高まるのではないかと推定し実験を行った。その結果、共感作するとDC表面上に提示されたIPP様分子が γ δ TCRで認識され、 γ δ T細胞の活性化と増殖が起きた。一方、MHCクラスIIに提示された腫瘍抗原を認識してCTL誘導が増強されることが示された。つまり活性化された γ δ T細胞が橋渡しとなって、DCの抗原提示能力を高めることにより腫瘍抗原特異的CTLの誘導上昇もたらされることが示された。

続いて、門脇 則光氏（京都大学大学院 医学研究科）が「ヒト樹状細胞サブセットによるヘルパーT細胞反応の制御機構」と題する発表を行った。ヒト樹状細胞は骨髄系DCと形質細胞様DCの2つのサブセットからなり、前駆体の段階で異なる菌体成分を認識して異なるサイトカインを産生する。その一方で環境に対応し、最適のヘルパーT細胞反応を誘導する。さらにDCはCD70の存在下で、ヘルパーT細胞のサイトカイン産生を増強する役割を果たしている。

さらに、西村 孝司氏（北海道大学 遺伝子病制御研究所）が「免疫バランスを考慮したがんワクチン・細胞治療—Th1細胞治療を中心に」と題する発表を行い、ヘルパーT細胞による腫瘍免疫の重要性が示された。

これに先立って行われた「臨床治療実績と今後の展望」セッションでは、吉田 松年氏（医療法人 偕行会 名古屋共立病院）、金子 亨氏（医療法人社団 澁志会 新横浜メディカルクリニック）、加藤 洋一氏（医療法人社団 輪生会 白山通りクリニック）の3人が発表を行い、実地医療の現場から、その現状について報告された。

Symposium シンポジウム

「トランスレーショナルリサーチの現状」

午後に行われたシンポジウムでは、4人の研究者がトランスレーショナルリサーチの現状について報告した後に総合討論が行われ、細胞治療の保険収載と先進医療として承認される難しさが議論された。

モデレーターを務めた有賀 淳氏（東京女子医科大学）から、現在の薬事法の下では保険収載のためには治験が必要であり、治験と位置付けていない臨床研究の結果を薬事法における申請データとして使用不可であること、また厚生労働省が先進医療として承認する医療において、増殖活性化因子として使用するIL-2などすでに医薬品として承認されたサイトカインなどについては医薬品の適用外使用と判断し、今後はその使用を認めず薬事申請を前提とするという方針を打ち出したため、細胞療法が先進医療の対象外となってしまうとの指摘があった。

これに対して山口 佳之氏（広島大学）は、現在広島大学では効果を科学的に明確にするための研究を行っている段階であり、良い結果に基づき治験としてフェーズIから再度実施する方針であると説明した。また、先進医療における承認薬の適用外使用に関しては、今後の見直しに期待すると述べた。

一方、江川 新一氏（東北大学大学院）は、保険適用外の医療機器などと同様に免疫治療を大学が校費を用いた治験という形で行うことは可能ではないかと指摘した。

横川 潔氏（メディネット）は、当面は医薬品としての申請やその保険収載を目指す方向ではないとしたうえで、免疫細胞療法の有用性を示す研究は非常に重要と考え、GCPやGMPに準じた臨床研究を大学病院や基幹病院と積極的に進めており、それらについては今後規模を拡大しフェーズII以降にもっていく可能性もあると説明した。

本間 定氏（東京慈恵会医科大学）は、同大学では症例数が限られている脳腫瘍に限って扱っているため患者からは一切費用をもらわず研究費で負担していると説明し、今後とも患者に負担をさせない条件で研究を進めていく予定であると述べた。

Special Lecture 特別講演

「ティッシュエンジニアリング治療の現状と未来治療の社会構築」

岡野 光夫教授（東京女子医科大学 先端生命医学研究所）

岡野 光夫教授は、温度応答性の材料N-イソプロピルアクリルアミドを利用して細胞シートを開発したと発表された。32度で相転移を起こすこの材料の性質を利用して、37度から32度以下に温度を変化させるだけで、細胞を自在にくっつけたりはがしたりできる世界初の培養表面によって細胞シートの作製に成功した。岡野教授は専門医と共同でこの細胞シートを使って臨床応用を開始している。



角膜 東北大学の眼科教授西田 幸二先生と共同で角膜が白濁してしまうザルツマン変性症の患者の治療にこの細胞シートを使っている。特徴は、患者の口腔粘膜から細胞シートを作ることができる点で、患者はこの自己細胞シートを使うことで拒絶反応を起こす心配なく治療ができる。患者の口腔粘膜細胞を2平方ミリメートルほど取り、2週間培養し、ドーナツ型の細胞シートをはく離、マニピュレートする。培養皿の温度を下げ、培養表面を親水性にして細胞シートをはがし、支持膜を利用し変異部を切り取った患者の患部（眼）に細胞シートを置く。細胞シートには糊の役割を果たす接着タンパク質がくっついているため、患部に載せるだけで接着し、縫合する必要がない。すでに30人以上の患者に自家口腔粘膜細胞から作った細胞シートをつかって治療を行っている。4人の患者1.5年間のフォローアップを経て、結果を*New England Journal of Medicine*誌に掲載した。

歯根膜 東京医科歯科大学の石川先生（現：東京女子医大客員教授）と共同で歯の再生医療に歯根膜細胞シートを使っている。歯周病のモデルのイヌの親知らずから細胞をとって細胞シートを作る。歯がぐらぐらになった歯周病患者の歯根膜に細胞シートを貼り付ける。するとそこに極めて安定な界面が作られると同時に反対側に歯が再生される。現在は前臨床段階だが、すでに実験プロトコルが施設内倫理委員会（IRB）を通過しており、近く臨床試験にはいる予定だ。

心筋 心筋の細胞シートも開発している。注目すべき点は2枚の心筋シートを重ね合わせると同期することだ。30分から40分で完全に2つが同期する。これは界面にギャップジャンクションができ、電気的につながるためだ。これにより、構造的なつながりだけでなく、機能的にもつながった心筋細胞シートができる。岡野教授、清水助教授はこれをスタンプのように重ね合わせて厚い層も作っている。ただし3層ぐらいになると、ネクロシスが起きてしまう。ところが*in vivo*で同様の作業を行うと、24時間以内に血管が形成されることでネクロシスが起こらなくなる。そこで現在では3層のシートを体内に入れて血管が造成されたらまた3層をいれるという手法で厚い層にしている。すでに30層の細胞シートも作っている。

薬事法再生法について 自己細胞移植はすでに臨床に使われ始めている。しかし現在の法体系の下では、製品として細胞加工を行うと、自己細胞治療であっても「薬事法」の対象となる。岡野教授は、自己細胞移植は患者本人の細胞しか使用できず、本質的に流通性がないため、「薬事法」の対象外とすべきと考えている。また、患者はさまざまであり、規格化は不可能で、医師の判断でやるべきものであると主張した。

Nature Medicine Special Session

New Strategies to Enhance Cell-Based Immunotherapy for Cancer

Dr. James J. Mulé (H. Lee Moffitt Comprehensive Cancer Center)

固形腫瘍を対象疾患とした腫瘍特異的T細胞の養子移入と、樹状細胞を用いた樹状細胞ワクチンによる免疫細胞療法の臨床応用が広がりをみせている。新規の免疫細胞療法である樹状細胞ワクチン療法は動物モデルで有効性が示され、すでに臨床応用に使われ始めている。

動物実験の結果に基づいて、成人および小児癌患者で行われたフェーズI臨床試験がいくつか紹介された。例えば、標準治療法である骨髄移植などが奏効しなかった固形腫瘍（例えば、肉腫や神経芽細胞腫）の小児患者に対して樹状細胞ワクチン療法による治療が行われ、その結果強力な免疫反応の誘導が示された。

一方、この療法の課題は臨床応答率が低いことである。同博士は樹状細胞ワクチンの効果をより一層上げるための前臨床動物実験を行っている。その一例が、「二次リンパ組織ケモカイン」分子（SLCまたはCCL21）を使うものである。樹状細胞ワクチン治療の問題点のひとつは、注入された樹状細胞が投与した皮膚部位に留まり、リンパ節まで遊走しないことである。ケモカインSLCは一次免疫反応の開始に役割を果たしており、樹状細胞と抗原未感作のナイーブなT細胞をリクルートし、また、腫瘍特異的細胞傷害T細胞を活性化させる。動物実験で、ケモカインSLCと樹状細胞ワクチンの組み合わせが、局所および転移性のメラノーマ、サルコーマ、そして他の固形腫瘍に対する治療上の効果を著しく増大させ得ることが示された。この新戦略に基づくヒトでの臨床試験が現在進行中である。



Trends in Molecular Medicine

Dr. Clare Thomas (Nature Medicine Senior Editor)

*Nature Medicine*誌のシニアエディターを務めるClare Thomas氏は、HIVとTBを例に挙げて「分子医学」のアプローチの将来性を分析した。同氏によれば、HIVもTBもワクチンが必要とされているがこれまで大きな研究の進展はなく、薬の開発の方に実りが多かった。一方、TB用新規医薬品の候補の多くがブラインドスクリーニングの結果として同定されたのに対し、新規医薬品の開発がウイルスの複製メカニズムの理解の増進の後を追ってきたことから、「分子医学」のアプローチはHIVでより効果を発揮してきた。同氏は、分子医学のアプローチはTBで将来性があるかもしれないが、より良い動物モデルが必要であると結論づけた。

The 4th Annual Meeting of the Japan Research Association for Immunotherapeutics

Cell Transfer Therapy For Improvement of Treatment results

The Japan Research Association for Immunotherapeutics was established with the aim of cultivation and diffusion of immunotherapy for intractable diseases such as carcinoma. The 4th annual meeting hosted by the association was held at the Shin Yokohama Prince Hotel, Yokohama, Japan, on Saturday, February 10, 2007, and began with an opening address by Dr. Koji Egawa, the chairman of the association.

Workshop

The workshop held in the morning was divided into two themes: "Achievement of Clinical Treatment and Future Prospects" and "New Developments in Immuno-cell Therapies." Current work was reported by clinics, which offer immuno-cell therapies.

In the first session, "New Developments in Immuno-cell Therapies," Dr. Mie Nieda of the Medinet Medical Institute, Medinet Co., Ltd., gave a presentation entitled "Activated $\gamma\delta$ T cells mediate the increased induction of Tumor Antigen Specific CD8⁺T Cells by Tumor Antigen and Zoledronate co-sensitized Dendritic Cells." Medinet is now developing DC (Dendritic Cell) that can induce more tumor antigen specific CTL (Cytotoxic T Lymphocyte) and also can kill tumors that do not express MHC (Major Histocompatibility Complex) class I. Experiments were conducted based on the inference that the induction of CTL might be increased by co-sensitization of DC with zoledronate and tumor antigen. As a result, IPP-like molecules that were presented on the DC surface were recognized by the $\gamma\delta$ T cell, and the $\gamma\delta$ T cell was activated and exhibited proliferation when the DC was co-sensitized. Meanwhile, it was indicated that the induction of CTL was enhanced by recognition of the tumor antigen presented to the MHC class I. Thus, it was demonstrated that the increased induction of the tumor antigen specific CTL was caused by the enhancement of the antigen-presentation capacity of DC mediated by the activated $\gamma\delta$ T cell.

Next, Dr. Norimitsu Kadowaki of the Graduate School of Medicine, Kyoto University, gave his presentation entitled "Control Mechanism of Helper T Cell Response by the Human Dendritic Cell Subset". Human dendritic cells consist of two subsets, myeloid DC and plasmacyte-like DC. They recognize different bacterial components in the precursor stage and produce different cytokines. At the same time, human dendritic cells induce the optimum helper T cell response responding to the environment. Further, DC plays a role in enhancing the cytokine production of helper T cells under the presence of CD70.

Dr. Takashi Nishimura of the Institute for Genetic Medicine, Hokkaido University, gave a presentation entitled "Carcinoma Vaccines and Cell Therapies in view of the Immunity Balance — Focusing on Th1 Cell Therapy" and indicated, in his speech, the importance of tumor immunity by helper T cells.

In the proceeding session "Achievement of Clinical Treatment and Future Prospects", three speakers, Dr. Shenen Yoshida of Nagoya Kyoritsu Hospital, Nagoya, Dr. Toru Kaneko of Shin-Yokohama Medical Clinic, Yokohama, and Dr. Yoichi Kato of Hakusan-dori Clinic, Tokyo, reported on the current situation in medical practices from an on-site perspective.

Symposium

Current Situation of Translational Research

In the symposium conducted in the afternoon, four researchers gave presentations on the current situation of translational research. Later, difficulties in getting cell therapy covered under insurance and approved as an advanced medical treatment were comprehensively discussed.

Dr. Atsushi Aruga of Tokyo Women's Medical University who acted as a moderator pointed out that clinical trials are essential for insurance coverage under the existing Pharmaceutical Affairs Law, and results from clinical studies that are not positioned as clinical trials are not allowed to be used as data for applications. In addition, he indicated that cell therapy may become excluded from advanced medical treatment due to the change of policy adopted by the Ministry of Health, Labor and Welfare. The policy now is that the Ministry of Health, Labor and Welfare can approve as advanced medical treatment, medical treatment using already approved medical drugs such as cytokines and so forth, such as IL-2 that are used as growth activating factors, as nonapproved indications. In the future however, pharmaceutical applications must be made for such drugs.

In response, Dr. Yoshiyuki Yamaguchi of Hiroshima University explained that they are currently conducting studies at Hiroshima University, to clarify the efficacy of cell therapy scientifically. And, contingent on good results, the University's objective is to conduct these studies again with clinical trials from phase I. Furthermore, he remarked that he hopes for future re-examination of the use of approved drugs as nonapproved indications in the field of advanced medical treatment.

On the other hand, Dr. Shinichi Egawa of the Graduate School of Medicine, Tohoku University, Sendai, pointed out that it may be possible to carry out immunotherapy as clinical trials funded by schools just as with medical devices not covered under insurance.

Dr. Kiyoshi Yokokawa of Medinet, suggested that application as a medical drug or coverage under insurance should not be the aim of immuno-cell therapy at the moment. He explained that he believes that studying the efficacy of immuno-cell therapies is very important and that clinical studies have been promoted actively in collaboration with university hospitals and key hospitals according to GCP (Good Clinical Practice) and GMP (Good Manufacturing Practice). He also explained that the scale in the future will be expanded, and these studies have the potential to progress into phase II clinical studies and later phases.

Dr. Sadamu Homma of the Jikei University School of Medicine explained that they are offering cell therapies to patients free of charge, restricting this to a limited number of brain tumor cases, and covering their costs from their research fund at Jikei University. He also mentioned that they are going to continue to promote their studies under the condition that they receive no payment from patients.

Special Lecture

Current Situation of Tissue Engineering Therapy and Social Structuring for Future Therapy

Professor Teruo Okano, Institute of Advanced Biomedical Engineering and Science, Tokyo Women's Medical University, Tokyo.

Professor Teruo Okano announced that he has developed cell sheets based on a temperature-responsive material, N-isopropyl acrylamide. As this material demonstrates phase transition at 32 °C, he succeeded in producing the cell sheets using the world's first culture surface that can attach and detach cells with complete control by changing the temperature from 37°C to below 32°C. Professor Okano has started clinical applications using these cell sheets in collaboration with specialized physicians.



Cornea: The cell sheets are being used in the treatment of patients with Salzmann's corneal degeneration, a disease in which the cornea becomes clouded. The treatment is in collaboration with Dr. Koji Nishida, professor of Department of Ophthalmology, Tohoku University, Sendai. Patients can undergo this treatment without concerns of rejection using these autogenous cell sheets, because the cell sheets are made from the patient's own mucous-membrane from the mouth. To produce the cell sheets, about 2 mm² of mucous-membrane cells are collected from a patient's mouth, incubated for 2 weeks, and then the doughnut-shaped cell sheets are detached and manipulated. The temperature is decreased to make the culture surface hydrophilic, the cell sheet is then detached, and the cell sheet using a supporting film is placed onto the affected site (eye) where the degenerated part was removed. The cell sheet will adhere by simply placing it on the affected area. It does not need to be sutured, because the cell sheet contains adhesion proteins that function as a glue. More than 30 patients have already received the treatment using the cell sheet made from autogenous mucous-membrane cells of the mouth. After follow-up study of four patients over one and half years, the results have been published in *New England Journal of Medicine*.

Periodontal membrane: Sheets of periodontal-membrane cells are being used, in collaboration with Dr. Ishikawa of Tokyo Medical and Dental University, Tokyo (current guest professor of Tokyo Women's Medical University), for regeneration dental treatment. The cell sheets are produced from cells collected from the wisdom tooth of canine models with periodontal disease. The cell sheets are attached onto the periodontal membrane of the loose tooth of the periodontal disease patient. Then, as the cell sheet forms a highly stable interface, the tooth is regenerated on the other side of the sheet. This technique is currently still at the preclinical stage, but its protocol of experiments has already passed the review of the Institutional Review Board (IRB), and clinical trials are expected to begin in the near future.

Cardiac muscle: Cardiomyocyte sheets are also under development. A notable characteristic is that when superposed, cardiomyocyte sheets synchronize with each other. Two sheets completely synchronize, 30-40 min after superimposition, because gap junctions are established on the interface and the two sheets electrically connect with each other. This allows the production of not only structurally but functionally connected cardiomyocyte sheets. Professor Okano and associate professor Shimizu are also generating thicker layers by superimposing cell sheets like stamps. However, at about three layers, necrosis develops. But, when similar procedures are performed *in vivo*, due to angiogenesis that occurs in 24 hours, necrosis is avoided. Therefore, they are now using a technique in which a three-layered sheet is introduced into the body, and then after angiogenesis, another three-layered sheet is introduced. They have already succeeded in generating a thirty-layered cell sheet.

Regeneration Medicine and Pharmaceutical Affairs Law: Grafting of autologous cells has already been applied clinically. However, when carrying out cell processing as a product, although it may be an autologous cell therapy, it is subject to the Pharmaceutical Affairs Law under the conventional legal structure. Professor Okano believes that it should be exempt from the Pharmaceutical Affairs Law, because only cells from patients themselves can be used for autologous-cell grafting, and thus it is not circulative. In addition, he made the point that standardization is impossible due to the variety of patients, and that this therapy should be conducted at the physician's discretion.

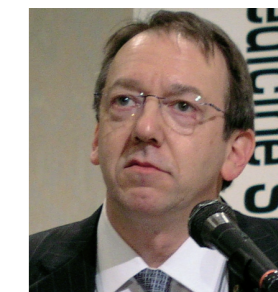
Nature Medicine Special Session

New Strategies to Enhance Cell-Based Immunotherapy for Cancer

Dr. James J. Mulé (H. Lee Moffitt Comprehensive Cancer Center)

Clinical applications of adoptive transfer of tumor-specific T-cells against solid tumors, and immuno-cell therapies using dendritic cell-based vaccines are growing. A dendritic cell-based vaccine therapy, which is a novel immuno-cell therapy has demonstrated its effectiveness in animal models and has already come into clinical use.

Based on results in animal experiments, several phase I clinical trials in advanced adult and pediatric cancer patients were introduced. For example, dendritic cell-based vaccine therapy was conducted in children with solid tumors (e.g., sarcoma and neuroblastoma) that did not respond to standard treatments, including bone marrow transplant. The results showed the induction of a strong immune response.



The problem with the therapy, however, is its low clinical response rate. Dr. Mulé is conducting preclinical animal studies to further increase the efficacy of dendritic cell-based vaccines. One such example is using the molecule "secondary lymphoid tissue chemokine" (SLC or CCL21). One problem with the dendritic cell-based vaccine therapy is that the injected dendritic cells remain at the administered skin site with very few migrating to the lymph nodes. Chemokine SLC plays a role in initiating a primary immune response and recruits dendritic cells and naive T-cells, which are unprimed cells against antigens, and also activates tumor-specific cytotoxic T-cells. Animal experiments have revealed that the combination of chemokine SLC and dendritic cell-based vaccines can markedly increase therapeutic potency against local and metastatic melanoma, sarcoma and other solid tumors. Human clinical trials based on this new strategy are now underway.

Trends in Molecular Medicine

Dr. Clare Thomas (Nature Medicine Senior Editor)

Dr. Clare Thomas, who serves as the Senior Editor of *Nature Medicine*, analyzed the potential of the "molecular medicine" approach using HIV and TB as examples. According to her, vaccines are needed for both HIV and TB, but no great advances in vaccine research have been seen so far. Drug development has been more fruitful. Whereas most new TB drug candidates have been identified as a result of blind screening, the "molecular medicine" approach has worked better for HIV: the development of new drugs has followed increased understanding of the molecular mechanisms of viral replication. She concluded that the molecular medicine approach could have potential for TB, but better animal models are needed.

Contact Details: MEDINET Co., Ltd. Medical Planning Division

Usui Bldg 9F, 2-5-14 Shin-Yokohama, Kohoku-ku, Yokohama, Kanagawa, 222-0033 JAPAN

TEL: +81-45-478-0082 FAX: +81-45-478-0043

e-mail: plan@medinet-inc.co.jp www.medinet-inc.co.jp/english/index.html

Emerging Bio-medical Technology
MEDI+NET