

図1 癌に対する生体の免疫サイクル

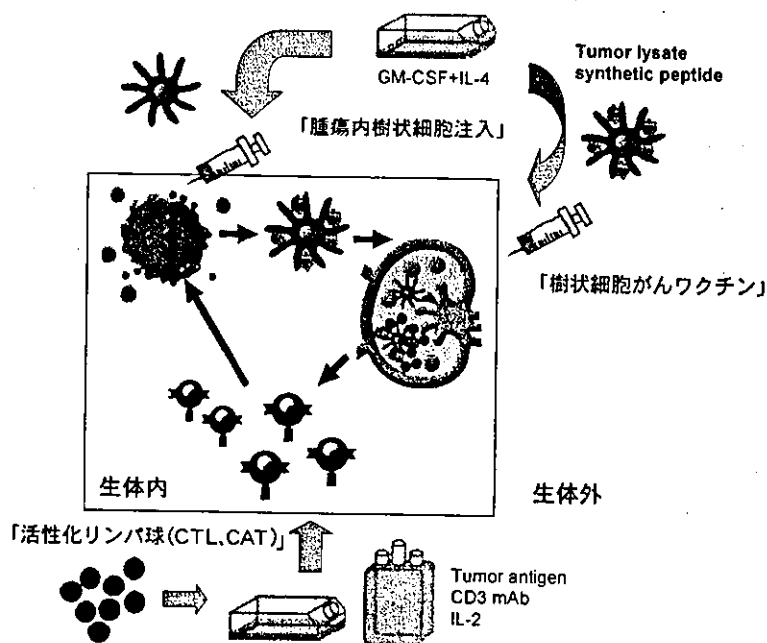


図2 免疫サイクルと免疫細胞療法

められ、消化器癌領域でも CEA, MUC 1, HER 2, MAGE-3 などの人工ペプチドを提示させた樹状細胞がんワクチンの臨床研究が行われている。また、樹状細胞はアポトーシスに陥った癌細胞や癌細胞の

破片を貪食して細胞内で処理し癌抗原を MHC 分子と結合して細胞表面に提示する機能があり、自己癌細胞が手術などで採取された場合に自己癌抽出抗原を用いたワクチンが作製可能となる。HLA 分子 4 量

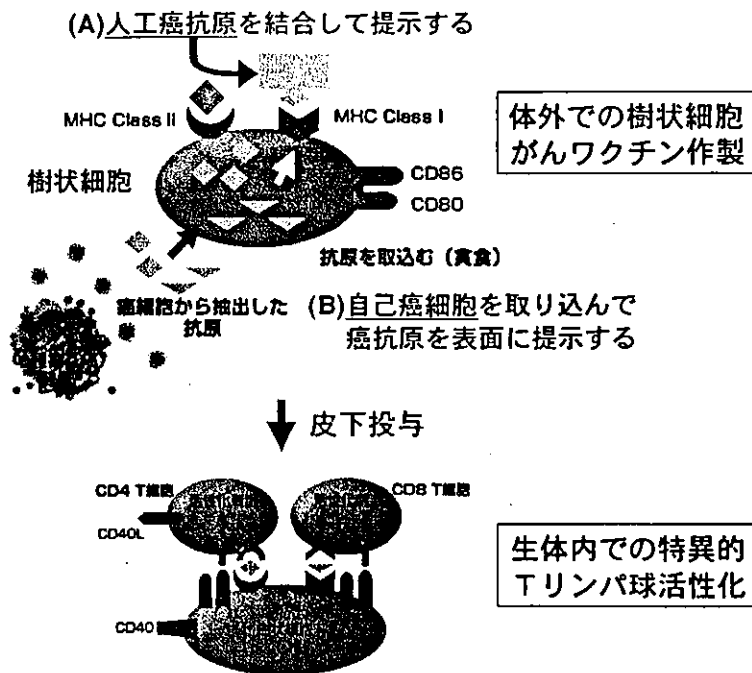


図3 樹状細胞がんワクチン療法

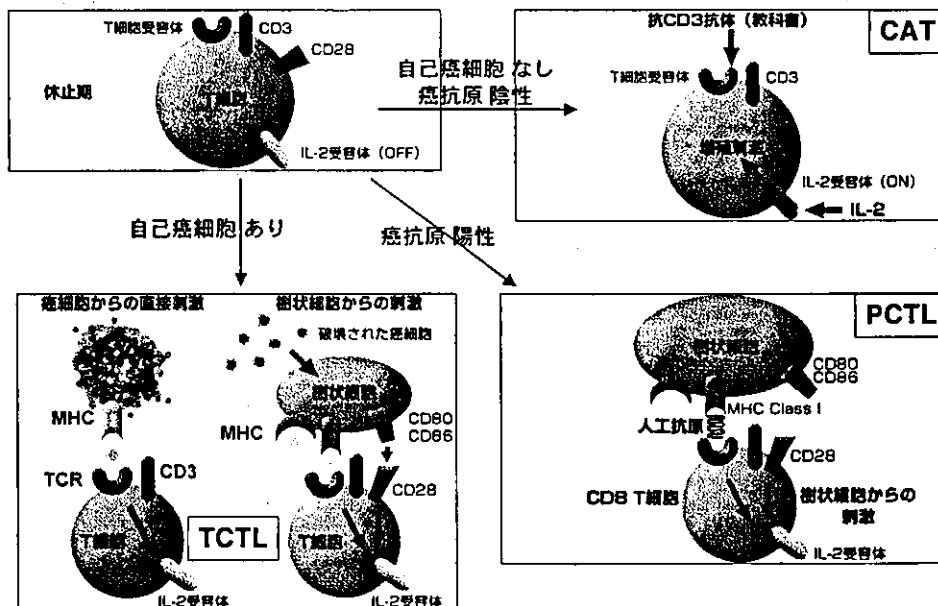


図4 リンパ球活性化プロセッシング

体に抗原ペプチドを結合したHLAテトラマーを用いたフローサイトメトリー検査で、樹状細胞がんワクチンの投与後の患者末梢血に抗原特異的CTL前駆細胞が増加することが確認されており、臨床経過においても腫瘍縮小効果や腫瘍マーカーの減少が報告されている。

最近では抗原を提示していない未成熟樹状細胞を体内の腫瘍に直接注入し、体内で腫瘍を貪食させてワクチンを作製する“腫瘍内樹状細胞注入療法”が考案され、本大学をはじめとして慶応大学、東京大学医科学研究所等で臨床試験が開始された。この方法では体外での煩雑な培養処理の過程が省け、簡便

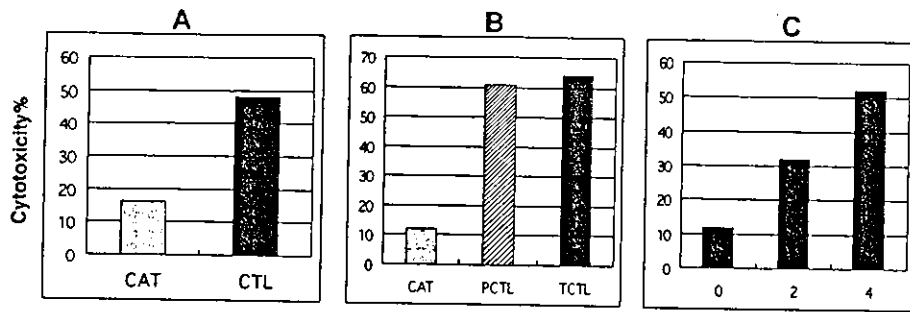


図5 効果細胞による腫瘍細胞傷害活性の比較
Cytotoxicity against auto. Tumor (A, B) or MUC 1 positive cancer cell line by 4 h-⁵¹Cr release assay. A: CAT vs CTL, B: CAT vs PCTL vs TCTL, C: CAT from patient received MUC 1-DC vaccine. Effector target ratio = 10 : 1.

で効率的な方法として期待される。

3) 攻撃細胞を強化する免疫細胞療法 (図4)

自然免疫の強化や癌抗原感作の強化では高度に進行した癌に対して十分な臨床効果は期待できず、それらは術後の再発、転移予防目的や微小癌に対する治療として位置付けられる。進行癌の場合では直接癌細胞と戦う免疫効果細胞を強化し、さらに増加させ集中的に投与する必要がある。癌細胞にMHC分子(ヒトではHLA)が発現し、そこに癌抗原が結合して提示されている場合ではTリンパ球を自己癌細胞で刺激培養してCTLを誘導することが可能であり、MHC分子や癌抗原の発現が比較的強い肝細胞癌、腎臓癌、メラノーマなどの疾患ではCTLの誘導に成功している。しかし、その他の多くの癌細胞ではMHC分子が欠損・消失しているためCTLの誘導が困難となっている。

そこで癌抽出抗原を樹状細胞に取り込ませて樹状細胞のMHC分子に結合させて提示させTリンパ球を刺激培養する方法が考案された(TCTL)。自己腫瘍が十分に採取できない場合には人工癌抗原ペプチドを樹状細胞のHLAに結合させてTCRに信号を送り、癌抗原ペプチド特異的CTL(PCTL)が誘導可能である。これらは癌抗原特異的CTLの誘導法であるが、TCRから活性化シグナルを入れる代わりにTCRと結合しているCD3分子を抗CD3モノクローナル抗体で直接刺激することにより活性化シグナルが細胞内に伝達され、抗原刺激なしでTリンパ球を非特異的に活性化する方法も考案されている(CD3-activated T: CAT)。

同一患者のリンパ球からCATとCTL, PCTL, TCTLをそれぞれ誘導し自己癌細胞傷害活性を比

較したところ、癌特異的CTL, PCTLおよびTCTLは非特異的CATに比べていずれも細胞傷害活性が著明に強力であった(図5A, B)。効果細胞個々の細胞傷害活性を比較すると、癌抗原特異的CTLを利用した免疫細胞療法がより望ましいといえよう。

3. 東京女子医科大学消化器病センター外科における免疫細胞療法の臨床成績

1) 多発性肝癌に対するCTL移入療法

Tリンパ球は獲得免疫において抗原を認識して癌部に集積し、癌を攻撃する細胞であるが、このTリンパ球を体外において癌抗原(癌細胞自身や癌抽出抗原を処理した樹状細胞)で刺激培養することによりCTLが誘導可能となる。消化器病センター外科において多発性肝癌で肝切除が施行された35例の肝遺残病変に対してCTLを4回肝動脈より移入する臨床研究が行われた。

患者末梢血からアフエレーシスで単核細胞層を採取し、手術により得られた自己肝癌細胞を酵素処理で単細胞とし、MMCで前処理した細胞もしくは抽出抗原を用いてパルスした樹状細胞で刺激培養し、CTLを誘導して経肝動脈的に移入した。35人中14人(40%)に奏効(CR+PR)が認められ、18人(51%)で腫瘍増殖抑制(SD)が認められた(表2)。副作用としては4人にGrade 1の発熱を認めたのみで安全に実施が可能であった¹⁾。

この臨床成績をもとに1998年2月より肝臓癌に対する「活性化自己リンパ球移入療法」が高度先進医療として東京女子医科大学に認定されている。最近では自己腫瘍の代わりに人工癌抗原ペプチドを提示させた樹状細胞を用いて誘導したPCTLを用い

表2 多発性肝癌に対するCTL移入療法の臨床成績 (1989.4～2003.3)

疾患		症例数
肝細胞癌		25例
大腸癌肝転移		5例
膵臓癌肝転移		2例
上記以外の原発による肝転移		3例
臨床効果	腫瘍縮小率	症例数
CR (complete response)	100%	5/35 (14%)
PR (partial response)	30%<	9/35 (26%)
SD (stable disease)	-20~30%	18/35 (51%)
PD (progressive disease)	-20%>	3/35 (9%)

注) 治療効果判定はRECISTガイドラインによる。

表3 多発性肺転移に対するCAT移入療法の臨床成績 (1996.8～2003.3)

疾患		症例数
大腸癌肺転移		7例
肝細胞癌肺転移		4例
膵臓癌肺転移		1例
臨床効果	腫瘍縮小率	症例数
CR (complete response)	100%	2/12 (17%)
PR (partial response)	30%<	4/12 (33%)
SD (stable disease)	-20~30%	5/12 (42%)
PD (progressive disease)	-20%>	1/12 (8%)

注) 治療効果判定はRECISTガイドラインによる。

た臨床研究を進めている²⁾。

2) 多発性肺転移に対するCAT移入療法

特異的CTLを誘導するための自己癌が採取できない症例や、既知の癌抗原を発現していない症例では特異的免疫細胞療法は実施できない。消化器病センター外科では、TCR分子に結合しているCD3分子をモノクローナル抗体で刺激して活性化したCAT細胞を用いて、手術や化学療法の適応のない多発性肺転移12例に対してCAT移入を行った。

アフエーシスで患者自己単核細胞を採取し、固相化抗CD3抗体で48時間刺激した後に培養バックに移し、IL-2の存在下にさらに5日間培養してCATを誘導した。CAT細胞は生理食塩水100mlに浮遊させ、末梢静脈より点滴で投与し、4回以上の細胞投与を行った後に、CT検査で腫瘍縮小効果を検討した。12人中6人(50%)で奏効が認められ、5人(42%)で腫瘍増大抑制(SD)が認められた(表3)。副作用として12人中4人にCAT移入同日

のGrade1の一時的発熱を認めたのみで、重篤な副作用はなく、安全に細胞投与が可能であった³⁾。

CATはCTLと比較して抗腫瘍効果が発現するまでに細胞投与回数(移入細胞数)が多く必要であった。細胞1個あたりの抗腫瘍効果が少ない分を総細胞数、投与回数で補う必要があるといえよう。CD3活性化では癌抗原特異的免疫応答は誘導されないため、CATは基本的にはNKと同様の非特異的効果細胞と考えられるが、すでに生体内で癌に対する獲得免疫が存在し、特異的CTL前駆細胞が体内に存在している場合には、CD3抗体刺激によりCTL前駆細胞が活性化され増加して強力な抗腫瘍効果を発揮することも考えられる。

現在“樹状細胞がんワクチン療法”の臨床研究が消化器病センター外科で進められているが、ワクチン投与により生体内で獲得免疫が誘導された症例において、患者末梢血由来CATの癌特異的細胞傷害活性がワクチン投与とともに増強することが確認さ

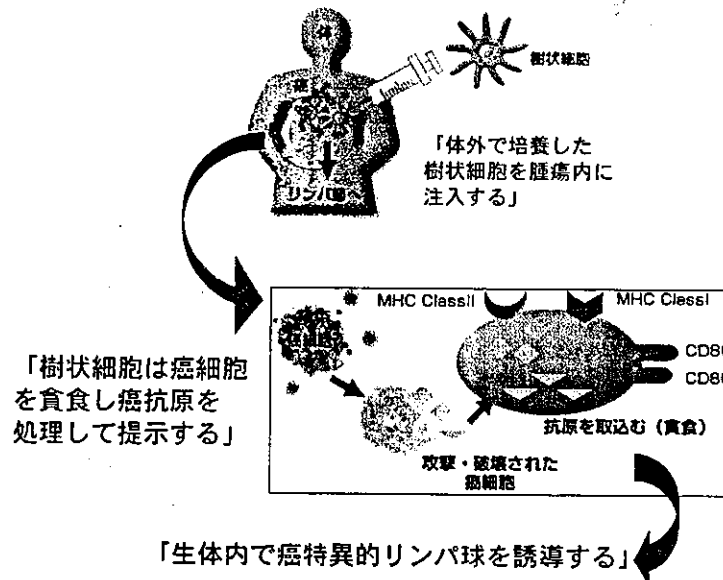


図6 腫瘍内樹状細胞注入療法

れており(図5C), 樹状細胞がんワクチンと活性化リンパ球(CAT)を併用した複合癌免疫細胞療法の開発も研究されている。

3) 樹状細胞がんワクチン療法

CTLやCATのような免疫効果細胞を体外で活性化培養して投与する細胞療法は手技が煩雑であり, コストも非常に高くかかることが問題となっている。癌特異的免疫を生体内で誘導してCTL前駆細胞を体内で増加させることを狙って樹状細胞がんワクチン療法が考案された⁶⁾。消化器病センター外科において肝細胞癌, 胆管細胞癌, 膵臓癌, 転移性肝癌, 胆管癌などに対して樹状細胞がんワクチン療法の臨床研究が実施されている。

手術により採取された自己癌細胞より自己癌抗原を抽出し樹状細胞に取り込ませて癌抗原を提示させ, 3週に1回の頻度で4回以上のワクチン投与を行う。十分な自己癌細胞が採取不能な症例でMUC1抗原が陽性であった場合は人工MUC1抗原ペプチドを樹状細胞に提示させたワクチンを投与している⁹⁾。

MUC1は膵臓癌, 胆管癌, 大腸癌などに高率に異常発現するムチン抗原であり, 消化器癌領域では異常発現症例が多い。現在まで樹状細胞の皮下投与によりGrade1の発熱と倦怠感が一部に認められたのみで安全に細胞投与が可能となっており, 腫瘍マーカーの減少や腫瘍縮小効果も確認され, 有効な治療法となり得ることが期待される。

4) 腫瘍内樹状細胞注入療法(図6)

樹状細胞がんワクチン療法が獲得免疫を強化する目的であったのに対して, 自己腫瘍が採取不能な症例などで体内に残存する腫瘍に未成熟樹状細胞を直接注入する腫瘍内樹状細胞注入療法が考案された⁶⁾。動物実験では樹状細胞を腫瘍に注入すると, 細胞を注入していない別の場所の病巣も縮小する効果が確認されている。消化器病センター外科で切除不能高度進行消化器癌症例に対する腫瘍内樹状細胞注入療法の臨床研究が開始された。

アフエレーシスにより得られた末梢血単核細胞をフラスコに静置し, 2時間後のフラスコ付着細胞をGM-CSFとIL-4を添加したAIM-V培養液で1週間培養して未熟樹状細胞を誘導し, 内視鏡, CT, 超音波ガイド下で腫瘍内に4回注入する。現在までの臨床研究では細胞注入による副作用はGrade1の一時的な発熱のみで, 重篤な副作用は認められず安全に細胞投与が実施可能となっている⁷⁾。局所に樹状細胞を注入することにより未治療の肺転移病巣が縮小した症例も経験され, 全身における特異的免疫獲得が誘導される可能性が示された。

4. 新しい免疫細胞療法の展開

1) 既存の効果細胞の併用投与

がんワクチンを生体投与することにより体内で癌特異的CTLが誘導されることがわかり⁸⁾⁹⁾, 樹状細胞がんワクチンと活性化リンパ球を併用した複合癌免疫細胞療法の臨床研究が現在, 消化器病センター

東京女子医科大学

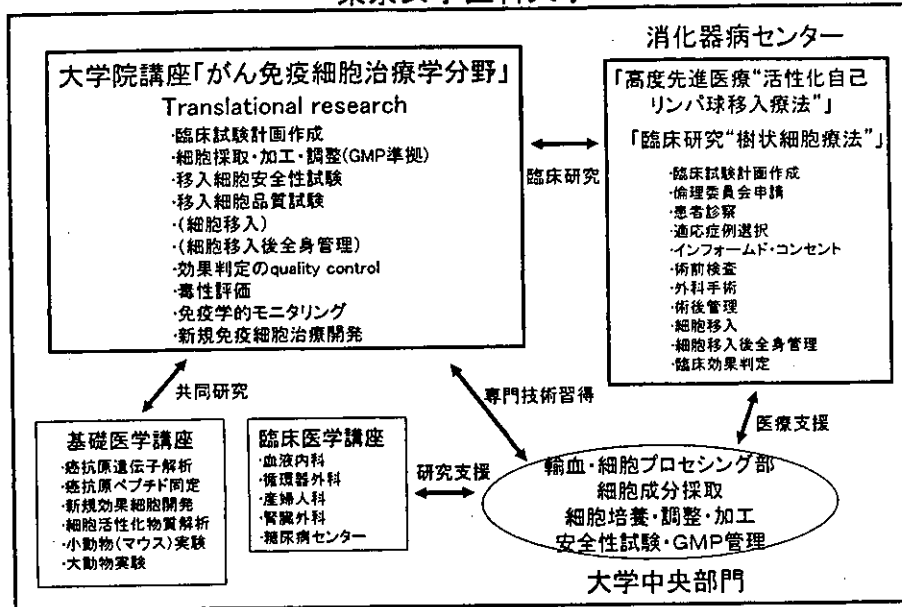


図7 東京女子医科大学における細胞療法連携図および大学院講座における translational research

外科で実施されている。さらに大学院がん免疫細胞治療学分野と消化器病センター外科との共同研究で、一度の末梢血採血から樹状細胞，Tリンパ球，NK細胞をそれぞれ分離培養して複合的免疫細胞治療を行う方法を開発し，現在臨床試験の準備を進めている。

2) 新しい効果細胞の開発

現在Tリンパ球は主に $\alpha\beta$ Tリンパ球が治療に利用されているが，新たに $\gamma\delta$ Tリンパ球を選択的に活性化する方法が開発され，当大学泌尿器科で第1相臨床試験が開始された。また，NK細胞とT細胞の両方の性質を有するNKT細胞の選択的活性化法も開発され，現在千葉大学を中心に臨床試験が行われている。新しい癌抗原ペプチドも多数発見されており，多くの臨床試験が現在進行中である。

自己の免疫担当細胞以外でも，非自己の末梢血幹細胞を利用したミニ移植と呼ばれる方法も開発された。非自己のリンパ球が引き起こすGVHDを抗腫瘍効果として利用する治療法であるが，副作用の問題など今後の慎重な臨床研究が必要とされている。

3) 免疫細胞療法と抗体療法の併用治療

モノクローナル抗体を用いた癌治療が開発され，実際に臨床治療に医薬品として利用されてきた。HER2に結合するハーセプチンは抗原エピトープ

を認識する部位と反対の部位にFc部分があり，NK細胞のCD16分子と結合してADCCを引き起こすことが考えられている。これを利用してNK細胞とハーセプチンを併用した治療の研究が進められている。EGFRに対する抗体とCD3Tリンパ球に対する抗体を結合させた二重特異性抗体の作製など，抗原特異的抗体との併用により非特異的免疫細胞治療が特異性を発揮し，臨床効果が増強することが基礎研究で示されており，今後の臨床応用が期待される。

5. 今後の課題

免疫細胞療法は副作用の少ない，効果的な治療であることが現在までの臨床研究より確認されたが，現在の標準治療と比較して効果が優れているかどうかは，大規模無作為試験によって評価しなければならない。しかし，その臨床試験を多施設で行うためには細胞培養調整に熟達した専門の医師，技術者，看護師が必要となり，さらに昨年7月に薬事法が改正され，今後細胞療法を行うためには厳格な基準を満たした細胞処理専用設備と，GMPに準拠した厳しい管理が要求されることになる。

治療にかかる費用も高額であるため，大規模臨床試験の実現には多くの難関があるといえよう。治療に利用される効果細胞の採取，培養，調整法も改善すべき点があり，より効果的な細胞を安全で簡単に

低コストで調整することが本治療の普及のために必要となってくる。

細胞投与に際しても細胞移入経路の工夫が必要であり、いかにして効果細胞を効率よく腫瘍部位へ到達させるかが重要となる。新しい効果細胞の開発と同時に、標準治療である手術、化学療法、放射線治療との組み合わせを考慮することも今後重要と考えられる。

本学では平成15年4月に新しく大学院講座「がん免疫細胞治療学(消化器がん)分野」が開設された。この大学院講座は医学研究科外科系専攻に属する関連分野である。主に新規免疫細胞治療の開発と臨床試験実施におけるトランスレーショナルリサーチを行うことを目指している(図7)。

まとめ

自己の免疫担当細胞を利用した細胞療法は副作用の少ない有効な治療法と考えられる。現時点での免疫細胞療法はその臨床効果より、①進行癌手術後の微小遺残・転移病巣に対する補助療法、②標準治療が無効もしくは実施不能な場合の腫瘍増殖抑制を期待した治療、③標準治療との併用による効果増強・副作用軽減を期待した治療として位置付けられる。実際の臨床効果を上げるためには生体内での免疫サイクルと cell delivery を考慮した治療戦略が必要である。免疫細胞療法は実施費用、設備、細胞管理等、今後改善すべき課題を多く含んだ分野ではあるが、将来への期待も大きく、「がん免疫細胞治療学」講座

を通して免疫細胞治療の行く先を追い求め、また開拓していきたいと思う。

文 献

- 1) Aruga A, Yamauchi K, Takasaki K et al: Induction of autologous tumor-specific cytotoxic T cells in patients with liver cancer. Characterizations and clinical utilization. *Int J Cancer* 49: 19-24, 1991
- 2) 有賀 淳, 高崎 健: CTL療法. *血腫瘍* 38(1): 45-52, 1999
- 3) 有賀 淳, 谷川啓司, 清水公一ほか: 転移性肺癌に対する免疫的細胞治療. *日臨* 60(5): 621-624, 2002
- 4) Fields RC, Shimizu K, Mule JJ: Murine dendritic cells pulsed with whole tumor lysate mediate potent antitumor immune responses in vitro and in vivo. *Proc Natl Acad Sci USA* 95: 9482-9487, 1998
- 5) 有賀 淳, 谷川啓司, 清水公一ほか: MUC1 ペプチドを用いたがんワクチン. *血腫瘍* 45(1): 28-35, 2002
- 6) Candido KA, Shimizu K, McLaughlin JC et al: Local administration of dendritic cells inhibits established breast tumor growth: implications for apoptosis-inducing agents. *Cancer Res* 61: 228-236, 2001
- 7) 谷川啓司, 清水公一, 有賀 淳ほか: 樹状細胞の腫瘍内局注療法. *血液フロンティア* 11(8): 59-66, 2001
- 8) Chang AE, Aruga A, Cameron MJ et al: Adoptive immunotherapy with vaccine-primed lymph node cells secondarily activated with anti-CD3 and Interleukin-2. *J Clin Oncol* 15(2): 796-807, 1997
- 9) Tanigawa K, Takeshita N, Shimizu K et al: Antitumor reactivity of lymph node cells primed in vivo with dendritic cell-based vaccines. *J Immunother* 24(6): 493-501, 2001

Immunohistological Evaluation of Single Small Hepatocellular Carcinoma with Negative Staining of Monoclonal Antibody Hepatocyte Paraffin 1

TAKAAKI SUGIKI,¹ MASAKAZU YAMAMOTO,^{1*} ATSUSHI ARUGA,¹ KEN TAKASAKI,¹
AND MASAYUKI NAKANO²

¹Department of Gastroenterological Surgery, Tokyo Women's Medical University, Tokyo, Japan

²Division of Clinical Pathology, National Chiba Hospital, Chiba, Japan

Background and Objectives: The sensitivity and specificity of the monoclonal antibody Hepatocyte Paraffin 1 (Hep Par 1) for hepatocellular carcinoma (HCC) are very high, and the usefulness for differential diagnosis of hepatic tumors has been reported. However, there are some cases of HCC with negative staining for Hep Par 1. We examined the histopathological features of HCC with negative staining for Hep Par 1. **Methods:** We examined 69 samples of single nodular HCC less than 2 cm in greatest dimension, resected from 1985 to 1994 in our hospital, with immunohistological staining for Hep Par 1, cytokeratin 19 (CK 19), MUC-1 glycoprotein (MUC-1), and epithelial membrane antigen (EMA).

Results: Hep Par 1 staining was positive in 64 cases (93%) and negative in 5 cases (7%). With regard to the histological structure, 3 of the 5 negative cases were scirrhous HCC. With regard to the grade of histological differentiation, 2 cases were poorly differentiated HCC, 3 cases were moderately differentiated HCC, and no well-differentiated HCC was found in the negative cases. CK 19, MUC-1, and EMA staining were negative in all cases.

Conclusions: It is necessary to recognize the existence of Hep Par 1 negative HCC, in particular scirrhous HCC. This may be due to a different mechanism in the earlier stage of hepatocarcinogenesis.

J. Surg. Oncol. 2004;88:104–107. © 2004 Wiley-Liss, Inc.

KEY WORDS: Hepatocyte Paraffin 1; hepatocellular carcinoma; scirrhous hepatocellular carcinoma; immunohistochemistry

INTRODUCTION

In 1993 Wennerberg et al. reported the monoclonal antibody Hepatocyte Paraffin 1 (Hep Par 1), which reacts with normal and neoplastic hepatocytes in routine formalin-fixed and paraffin-embedded tissues [1]. Later other reports have proved the usefulness of Hep Par 1 for differential diagnosis of hepatic tumors [2–4]. Hep Par 1 is considered specific for normal hepatocytes and hepatocellular carcinoma (HCC), and rarely reacts with bile duct cells, nonparenchymal liver cells, and metastatic tumor cells. The sensitivity and specificity of Hep Par 1 for HCC are very high, but there are some cases of HCC with negative staining for Hep Par 1. In the present study, we examined the histopathological features of HCC with negative staining for Hep Par 1.

MATERIALS AND METHODS

We examined 69 samples of single HCC less than 2 cm in greatest dimension, resected from 1985 to 1994 in our hospital. The pathological diagnosis was confirmed by review of available hematoxylin and eosin (H&E) stained slides in each case by a pathologist. On the slice with greatest dimension of HCC, we performed immunohis-

*Correspondence to: Masakazu Yamamoto, Department of Gastroenterological Surgery, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho Shinjuku-ku, 162-8666 Tokyo, Japan. Fax: +81-3-5269-7435. E-mail: yamamoto@ige.twmu.ac.jp

Accepted 9 August 2004

DOI 10.1002/jso.20144

Published online in Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

tological staining for Hep Par 1 and biliary marker, cytokeratin 19 (CK 19), MUC-1 glycoprotein (MUC-1), and epithelial membrane antigen (EMA). Sections of formalin-fixed and paraffin-embedded cell block tissue were deparaffinized and hydrated in a series of xylene, graded alcohols, and water. To improve the staining pattern methods for antigen retrieval, heating in 10 mM citrate buffer, pH 6.0 by microwave was used. Endogenous peroxidase was blocked by immersion in 3% hydrogen peroxide. The sections were then washed in phosphate-buffered saline (PBS). Application of the primary antibody was done with an overnight incubation at 4°C. The mouse monoclonal antibody Hep Par 1 (clone OCH1E5.2.10; DAKO, Carpinteria, CA) was used at a dilution of 1:50. The mouse monoclonal antibody CK 19 (clone RCK108; DAKO) was used at a dilution of 1:200. The mouse monoclonal antibody MUC-1 (clone Ma695; Novocastra, Burlingame, CA) was used at a dilution of 1:100. The mouse monoclonal antibody EMA (clone E29; DAKO) was used at a dilution of 1:100. After another wash with PBS, application of biotinylated goat antimouse secondary antibody (DAKO) was done at room temperature for 40 min. The sections were washed again and treated for 40 min with streptavidin conjugated to horseradish peroxidase (DAKO). The colorizing agent diaminobenzidine was used subsequently. Sections were counterstained with hematoxylin. Negative control was performed by substituting PBS for the primary antibody. When more than about 80% of the tumor area showed negative staining for Hep Par 1, it was judged to be a Hep Par 1 negative case. Although HCC with diffuse clear cells or fatty vacuoles was visualized as Hep Par 1 negative under low magnification, the cytoplasm compressed by abundant glycogen or fat vacuoles showed positive staining under high magnification, and these were included as positive cases.

RESULTS

Normal hepatocytes around tumor cells were Hep Par 1 positive with cytoplasmic, diffuse, and granular patterns. In our 69 cases of single small HCC, Hep Par 1 staining was positive in 64 cases (93%) with characteristic cytoplasmic granular pattern (Fig. 1A,B). On the other hand, 5 of 69 cases (7%) were found to show negative staining (Fig. 1C). According to the distribution pattern, 1 of 5 cases showed completely negative staining for Hep Par 1, and 4 of 5 cases showed a little area of scattered positive staining in the tumor. In all 69 cases, biliary marker CK 19, MUC-1, and EMA staining were negative. With regard to the histological structure [5], 66 cases were of the trabecular type, no cases were of the pseudoglandular and compact type, and 3 cases were of the scirrhous type. In the trabecular type, 64 of 66 cases

showed positive staining for Hep Par 1. In the scirrhous type, all 3 cases showed negative staining for Hep Par 1 (Fig. 1D,E). With regard to the grade of histological differentiation, 16 cases were well-differentiated HCC, and all 16 cases were positive for Hep Par 1. Forty-one and 12 cases were moderately and poorly differentiated HCC, and 38 of 41 and 10 of 12 cases were positive, respectively (Table I). The only completely Hep Par 1 negative case was moderately differentiated HCC, non-scirrhous type.

DISCUSSION

In our study, 93% cases of single small HCC less than 2 cm in greatest dimension showed positive staining for Hep Par 1. Previous reports have proved Hep Par 1 to be a very useful marker for differential diagnosis between HCC and cholangiocellular carcinoma and metastatic liver tumor, including liver metastasis of hepatoid adenocarcinoma of the gastrointestinal tract [2-4,6,7]. It has been reported to have very high specificity (bordering on 100%) and slightly lower sensitivity (approximately 80-90%) for the identification of HCC [8]. However, some cases of HCC stained negative for Hep Par 1; 5 of 69 (7%) single small cases in our study, 1 of 38 (3%) reported by Wennerberg, 2 of 32 (6%) reported by Leong, 8 of 96 (8%) reported by Peiguo, and 1 of 290 (0.3%) reported by Wu [1,2,7,9]. In our study and other reports the final pathological diagnosis as HCC was established on the basis of H&E staining [1,2,7,9]. The tumors showed a morphologically hepatoid structure which was compatible with HCC. This indicates, however, that the pathological diagnosis was established on the basis of the only morphological character, not the detailed origin of the tumor.

In our study, all three cases of scirrhous HCC showed negative staining for Hep Par 1. In other reports, one case of Hep Par 1 negative staining reported by Wennerberg was scirrhous HCC, and two cases of Hep Par 1 negative staining reported by Leong were scirrhous HCC and poorly differentiated HCC, respectively [1,2]. Although the reason has been unclear, we can state that some cases of scirrhous HCC show negative staining for Hep Par 1. The usefulness of Hep Par 1 for differential diagnosis of liver biopsy has been reported [4], but it is necessary to recognize the existence of Hep Par 1 negative HCC, in particular scirrhous HCC, in small tissue samples.

Microscopic examination revealed that the antigen of Hep Par 1 might be the mitochondria in the hepatocytes [1]. Almost all HCC have hepatocellular intracellular organs and show positive staining for Hep Par 1 just like normal hepatocytes. In our study, Hep Par 1 staining was positive in 16 of 16 (100%), 38 of 41 (93%), and 10 of 12 (83%) cases of well and moderately/poorly differentiated

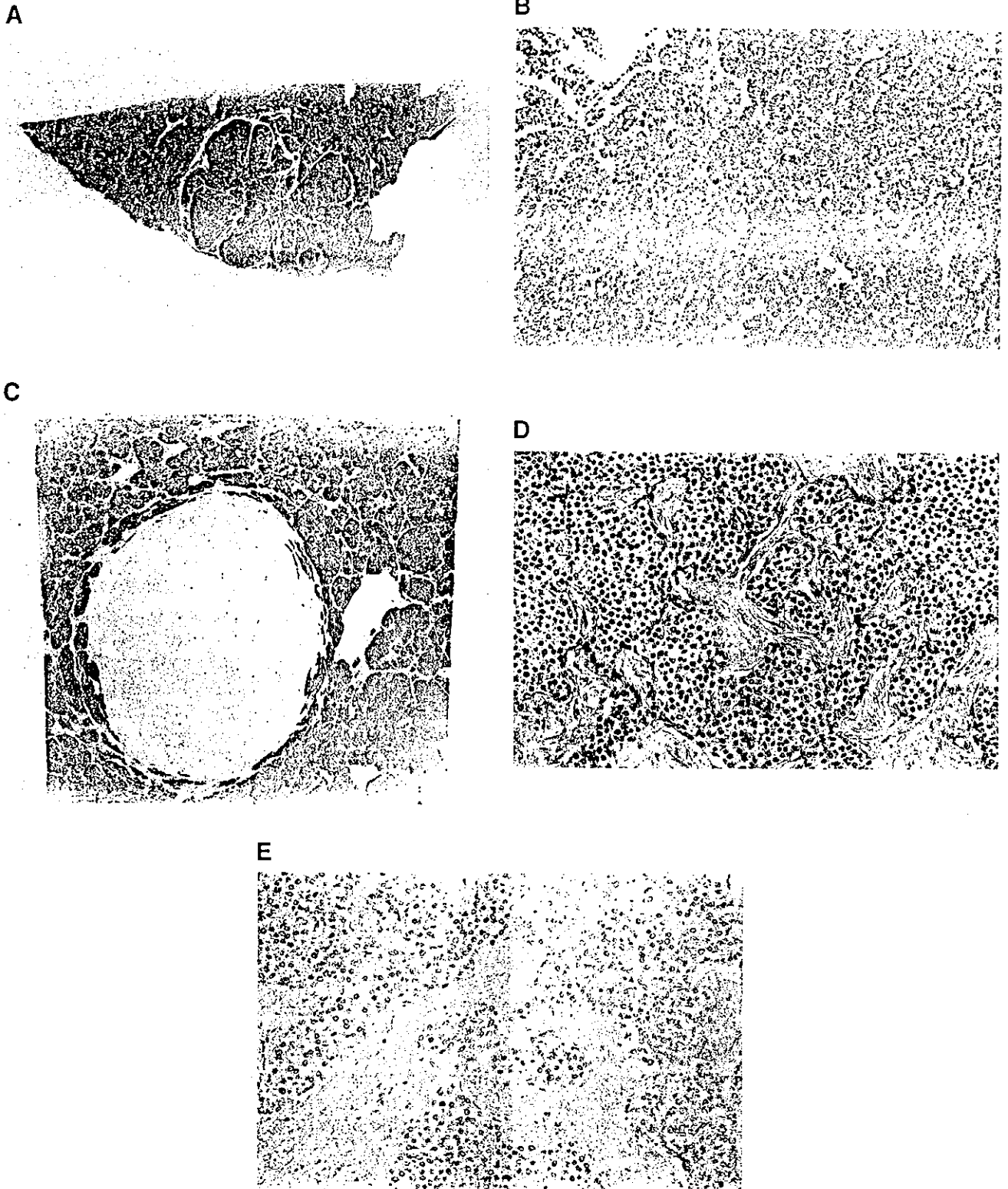


Fig. 1. Immunohistological staining of single small HCC using Hep Par 1. A, B: HCC with positive staining for Hep Par 1, with cytoplasmic, diffuse and granular pattern. C: HCC with completely negative staining for Hep Par 1 (non-scirrhous type). D: Scirrhous HCC with abundant fibrous stroma in H&E staining. E: Scirrhous HCC with negative staining for Hep Par 1. [Color figure can be viewed in the online issue, available at www.interscience.wiley.com.]

TABLE I. Immunohistological Staining of Single Small HCC Using Hep Par 1

	Total	Hep Par 1 positive	Hep Par 1 negative
HCC cases	69	64	5
Well differentiated	16	16	0
Moderately differentiated	41	38	3
Poorly differentiated	12	10	2
Scirrhou	3	0	3

HCC, hepatocellular carcinoma; Hep Par 1, Hepatocyte Paraffin 1.

HCC, respectively. It is possible that Hep Par 1 reactivity is related to the degree of hepatocyte differentiation. Fasano has already suggested this hypothesis in 1998, from the fact that in a study of hepatoblastoma, Hep Par 1 staining was generally less intense in the embryonal type than in the fetal type [10]. In our study, all cases of well-differentiated HCC stained completely positive, while poorly differentiated HCC did not always stain negative. It is also noteworthy that Wennerberg reported that all five cases of fibrolamellar HCC showed positive staining [1], while these are generally well differentiated.

From these data we suggest that Hep Par 1 immunogenicity may be lost as HCC becomes more poorly differentiated and more scirrhou. Supposing that single small HCC less than 2 cm in greatest dimension reflects the relatively early stage of HCC, there is less modification by focal differentiation and other changes as it grows in size. From this point of view, we believe that the appearance of a Hep Par 1 negative area in a smaller size HCC is significant. We suggest the possibility of a different mechanism in the earlier stage of hepatocarcino-

genesis between Hep Par 1 positive and negative staining HCC.

REFERENCES

1. Wennerberg AE, Nalesnik MA, Coleman WB: Hepatocyte paraffin 1: A monoclonal antibody that reacts with hepatocytes and can be used for differential diagnosis of hepatic tumors. *Am J Pathol* 1993;143:1050-1054.
2. Leong AS, Sormunen RT, Tsui WM, et al.: Hep Par 1 and selected antibodies in the immunohistological distinction of hepatocellular carcinoma from cholangiocarcinoma, combined tumors and metastatic carcinoma. *Histopathology* 1998;33:318-324.
3. Minevini MI, Demetris AJ, Lee RG, et al.: Utilization of hepatocyte-specific antibody in the immunocytochemical evaluation of liver tumors. *Mod Pathol* 1997;10:686-692.
4. Siddiqui MT, Saboorian MH, Gokaslan ST, et al.: Diagnostic utility of the HepPar1 antibody to differentiate hepatocellular carcinoma from metastatic carcinoma in fine-needle aspiration samples. *Cancer (Cancer Cytopathol)* 2002;96:49-52.
5. Ishak KG, Anthony PP, Sobin LH: *Histological typing of tumours of the liver*, 2nd edn. WHO. New York: Springer-Verlag, 1994.
6. Maitra A, Murakata LA, Albores-Saavedra J: Immunoreactivity for Hepatocyte Paraffin 1 antibody in hepatoid adenocarcinomas of the gastrointestinal tract. *Am J Clin Pathol* 2001; 115:689-694.
7. Peiguo GC, Ishizawa S, Emerald W, et al.: Hepatocyte antigen as a marker of hepatocellular carcinoma: An immunohistological comparison to carcinoembryonic antigen, CD10, and alpha-fetoprotein. *Am J Surg Pathol* 2002;26:978-988.
8. Murakata LA, Ishak KG, Nzeako UC: Clear cell carcinoma of the liver: A comparative immunohistochemical study with renal clear cell carcinoma. *Mod Pathol* 2000;13:874-881.
9. Wu PC, Fang JW, Lau VK, et al.: Classification of hepatocellular carcinoma according to hepatocellular and biliary differentiation markers. Clinical and biological implications. *Am J Pathol* 1996;149:1167-1175.
10. Fasano M, Theise ND, Nalesnik M, et al.: Immunohistochemical evaluation of hepatoblastomas with the hepatocyte-specific marker, hepatocyte paraffin 1, and the polyclonal anticarcinoembryonic antigen. *Mod Pathol* 1998;11:934-938.

2 臨床

② 樹状細胞を用いた癌免疫療法の理論と実際

清水 公一^{*1}, 有賀 淳^{*2}, 高崎 健^{*3}

Key Sentences

- ① ミエロイド由来の樹状細胞(MDC)は臨床的に培養方法が確立しており、簡便に比較的大量に誘導・生成が可能のため、ほとんどの施設でMDCが治療に用いられている。
- ② 樹状細胞に抗原を提示させて生体に投与する前には、樹状細胞を成熟化させる必要がある。
- ③ ライセート、ペプチド、タンパク質、RNA、apoptotic tumor cellが抗原として用いられている。また腫瘍抗原をコードした遺伝子の樹状細胞内移入やDC/腫瘍融合細胞が用いられている。どの抗原形態を用いるのが最も適しているのかについては、いまだコンセンサスが得られていない。
- ④ 悪性黒色腫、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、前立腺癌、大腸癌、非小細胞性肺癌、原発性肝癌、腎癌、小児腫瘍を中心に臨床試験が行われており第Ⅰ相・Ⅱ相臨床試験が終了して第Ⅲ相臨床試験を行っている疾患もある。
- ⑤ 樹状細胞療法の今後の方向性としては、標準療法後の微小残存病変に対する補助療法として位置づけ、第Ⅱ相・Ⅲ相臨床試験を行い、relapse free survival (RFS)やoverall survival (OS)の延長を証明することが必要である。

Key Words

樹状細胞療法, 臨床試験, 術後補助療法, 獲得免疫, 併用療法

はじめに

異物(抗原)を排除する免疫応答には、自然免疫と獲得免疫の2つの免疫応答があることは周知の事実である。異物(抗原)が排除される時には、自然免疫系が活性化され好中球や好酸球に代表される顆粒球、マクロファージやNK細胞が異物(抗原)局所に遊走・集積し、貪食を行ったりサイトカインを放出することで、生体内から異物(抗原)の排除が行われる。また、より有効に

生体内からの排除が可能なように、獲得免疫系の誘導・成立が行われる。その際には抗原提示細胞、特に樹状細胞(Dendritic cell: DC)が重要な役割を果たす。樹状細胞は異物(抗原)局所に遊走し、異物(抗原)の断片を貪食し所属リンパ節へと遊走する。貪食された異物(抗原)の断片は分解され樹状細胞表面の抗原提示分子(MHC分子)上に適した抗原エピトープとして提示される。樹状細胞が所属リンパ節内で主にT細胞と抗原情報をやり取りすることで、抗原特異的T細胞に代表される細胞性免疫あるいは抗体に代表される体液性免疫が

Current strategy of dendritic cell-based Immunotherapy

- * 1 SHIMIZU Koichi : 東京女子医科大学消化器病センター外科
- * 2 ARUGA Atsushi : 東京女子医科大学大学院医学研究科がん免疫細胞治療学分野教授
- * 3 TAKASAKI Ken : 東京女子医科大学消化器病センター外科主任教授

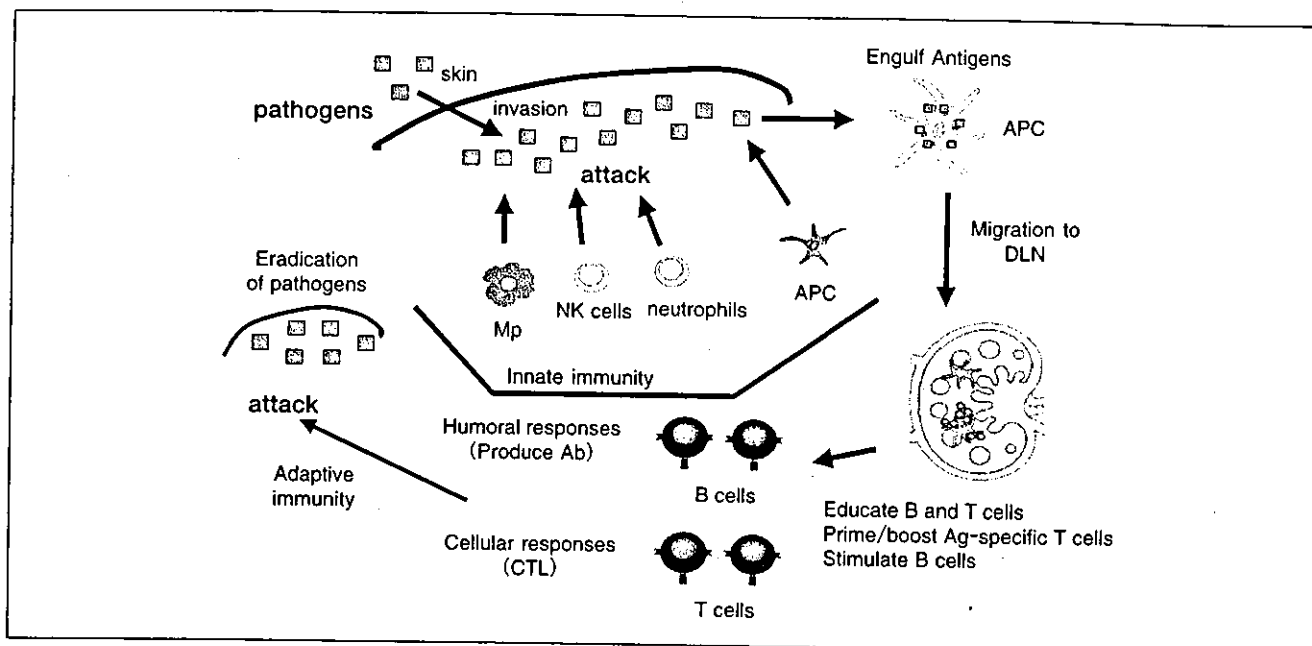


図1 Immune Cycle

Mp : macrophage, APC : antigen presenting cells, DLN : draining lymph nodes

誘導・確立され、異物(抗原)がより効果的に排除されると考えられている(図1)。獲得免疫の誘導・成立は routine immunization に代表され、特定の疾患に対して生体の免疫防御を行う上で重要な役割を担うものと考えられる。

腫瘍免疫学の進展から、腫瘍に対しても同様の免疫応答(サイクル)が成り立つと考えられている(図2)。微小腫瘍の段階では自然免疫系を代表する顆粒球、マクロファージやNK細胞が腫瘍の排除に重要な役割を果たしているが、腫瘍の増大とともに抗原提示細胞(特に樹状細胞)によって細胞性免疫や体液性免疫の成立が必要であり、抗原特異的T細胞や抗原特異的抗体が効果的に腫瘍の増大を抑制すると考えられている。

このような理解に基づいて、免疫療法は研究・開発が進められてきており、樹状細胞療法は2つの部位で免疫応答(サイクル)に関与している(図3)。1つ目は樹状細胞を誘導し適切な抗原をその表面上に提示する段階まで生体外で生成してから、生体内に投与し免疫応答(サイクル)に関与するやり方、2つ目は樹状細胞を誘導・生成し腫瘍内部に投与することで免疫応答(サイクル)

に関与するやり方である。

2つの関与方法が可能になった背景には、樹状細胞を誘導・生成する方法が確立してきたこと、腫瘍に発現する抗原の検索・同定が進んできたことが挙げられる。

動物実験(preliminary results)

マウスの実験モデルにおいて、様々な抗原(ペプチド¹⁾、ライセート²⁾、タンパク質³⁾、RNA⁴⁾)をパルスした、あるいはDC/腫瘍融合細胞を用いた樹状細胞療法で、マウスに抗原に対する獲得免疫を成立させることが可能であり、腫瘍の生着を拒絶したり、担癌マウスにおける癌の増殖を抑制あるいは縮小させることが可能であることが示された。また誘導された樹状細胞をマウスに生着した腫瘍内部に直接投与することで、腫瘍内部でアポトーシスを起こしている腫瘍細胞や腫瘍細胞の断片を樹状細胞に貪食させ、その後腫瘍近傍の所属リンパ節へ樹状細胞が遊走し、貪食した腫瘍の抗原を免疫担当細胞(主にT細胞)に提示することで、腫瘍特異的な獲得免疫を誘導させることが可能であることが示された⁵⁾。

マウスを主とした動物実験の結果を基に、現在樹状細胞療法の臨床試験が計画・施行されている。

ヒトにおける樹状細胞療法

1. 樹状細胞の誘導・生成

樹状細胞には大きくミエロイド由来とリンホイド由来があり、それぞれの前駆細胞から樹状細胞を誘導する方法が異なると同時にその機能も異なると考えられている。様々な検討・解析がなされているが、現時点ではどのサブセットの樹状細胞を用いるのが良いかのコンセンサスは得られていない。しかしミエロイド由来の樹状細胞(MDC)は、マウスやヒトの *in vitro* モデルでナイーブあるいはメモリーT細胞に作用して、1次あるいは2次免疫応答を誘導することが示唆されている。そのため、MDCを使用することに関してはコンセンサスが得られている。またMDCは臨床的に培養方法が確立しており、簡便に比較的大量に誘導・生成が可能のため、ほとんどの施設でMDCが治療に用いられている。

MDCはCD 14陽性の単球あるいはCD 34陽性細胞から誘導・生成することが可能である。Leukapheresisを行い簡便に大量のCD 14陽性の単球を採取することが可能であることから、多くの施設が末梢血CD 14陽性の単球由来の樹状細胞を用いている。末梢血中のCD 14陽性の単球はGM-CSFとIL-4で7日前後培養されると、未熟な樹状細胞に分化・誘導される。誘導されてきた樹状細胞は、抗原提示分子であるMHC class Iあるいはclass II分子を高発現しているが、抗原提示を行う際重要なアクセサリ分子であるCD 80やCD 86分子は低発現にとどまっている。成熟化の指標であるCD 83分子や所属リンパ節への遊走に必要なCCR7などのケモカイン受容体はほとんど発現しておらず、一方高い貪食能を有している。未熟な樹状細胞はその状態で生体に投与すると獲得免疫系を誘導・成立させるよりはむしろ免疫寛容を誘導・成立させることがわかってきたため、樹状細胞に抗原を提示させて生体に投与する前には樹状細胞を成熟化させる必要があることでコンセンサスが得られてきている。

2. 樹状細胞の成熟化

成熟化した樹状細胞では貪食能が低下するかわりにCD 80, CD 86, CD 40, CD 83といった分子が強発現し抗原提示能が増加する。また、いろいろなサイトカイン遺伝子の発現も上昇し産生が増加する。

樹状細胞の成熟化には様々な因子が関与する。LPSやTNF- α , Type 1 IFN (IFN- α , β), CpG, monocyte conditioned medium, サイトカインカクテル(PGE 2, IL-1 β , TNF- α , IL-6), OK-432, Poly I : C, CD 40 Lなどが樹状細胞に成熟化を促す因子として検討されているが、どの方法が最も良いかについては結論が出ていない。いずれの方法を用いるかは別として、抗原を提示させた樹状細胞を成熟化させて生体内に投与することに関してはコンセンサスが得られてきている。

3. 抗原

現在、腫瘍ライセート、ペプチド、タンパク質、RNA, apoptotic tumor cellが抗原として用いられている。また腫瘍抗原をコードした遺伝子の樹状細胞内移入やDC/腫瘍融合細胞が用いられている。腫瘍の種類によって同定された抗原が存在しない場合やHLAがマッチングしない場合は、すでに同定されているペプチドを用いることができないという欠点がある。

いろいろな抗原同定法を用いることで、悪性黒色腫や前立腺癌に対するペプチドや大腸癌に対するCEA由来ペプチド、MAGEファミリー由来ペプチド、食道扁平上皮癌に対するSART由来ペプチド、などの同定された免疫原性の高い抗原ペプチドが増えてきている。

どの抗原形態を用いるのが最も適しているのかについてはいまだコンセンサスが得られていない。現時点では癌の免疫逃避という問題や腫瘍側の抗原の発現に不均一性があるという問題から、ペプチドを使用する場合は、1種類のペプチドよりは数種類のペプチドを組み合わせた方がより効果的ではないか、あるいは複数の抗原エпитープを含むと考えられる抗原(ライセート、タンパク質、RNA、腫瘍細胞)を使用するべきであると考えられる。

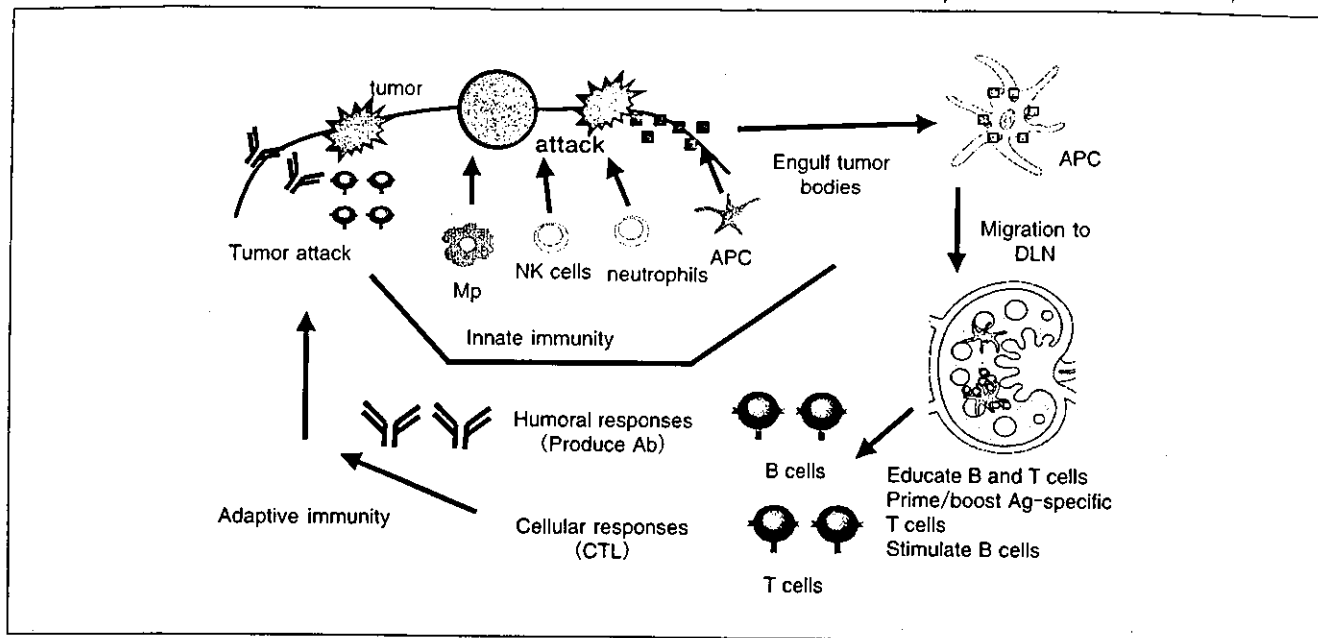


図2 Immune Cycle for Tumor Eradication

Mp : macrophage, APC : antigen presenting cells, DLN : draining lymph nodes

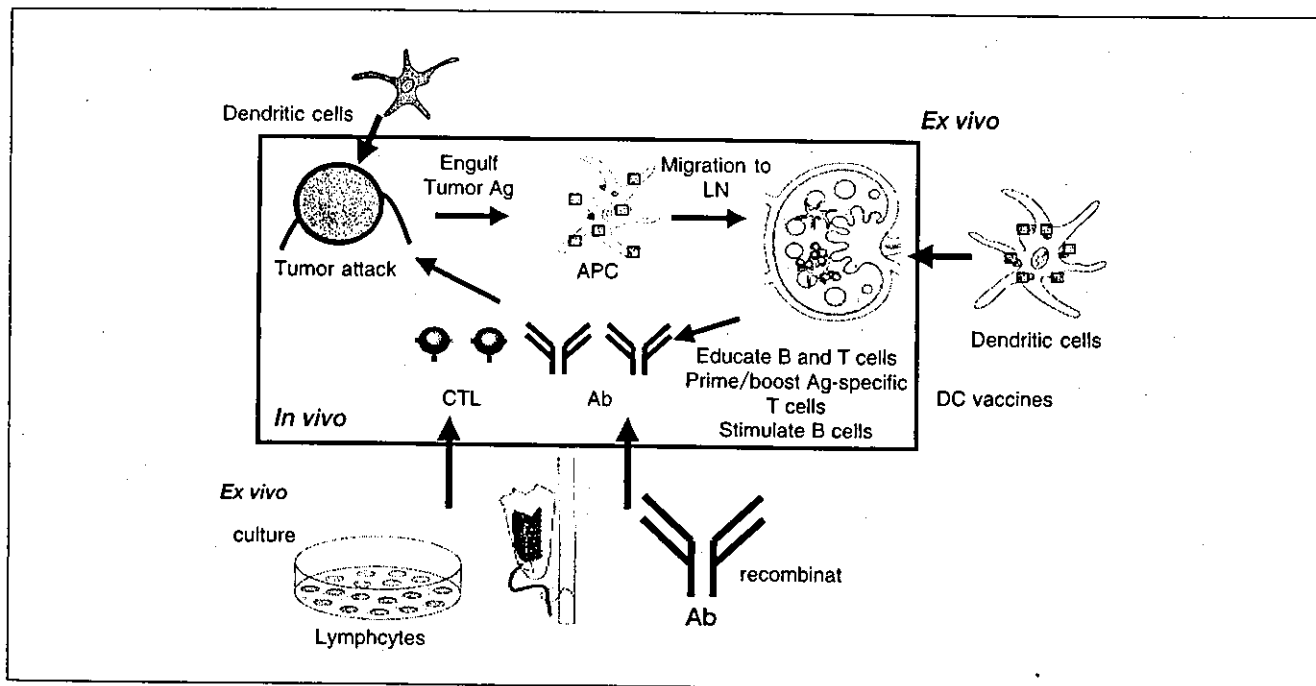


図3 Immunotherapy

APC : antigen presenting cells

4. 樹状細胞の投与部位

臨床試験では主に皮内投与、皮下投与、静脈内投与、リンパ節内投与の4つが行われている。樹状細胞の抗原提示は、樹状細胞投与部位の所属リンパ節にて行われると考えられており、樹状細胞の投与後の遊走状況を調べる研究がいくつかなされている。マウスモデルおよび臨床試験において放射性同位元素でラベルされた樹状細胞の投与が行われ、投与樹状細胞の移動が観察された⁹¹⁻⁹³⁾。現時点でコンセンサスが得られていることは、皮内あるいは皮下投与された樹状細胞の90%以上は投与部位にとどまり所属リンパ節へは移動しないこと、未熟な樹状細胞よりは成熟した樹状細胞のほうが2倍から3倍所属リンパ節へ移動しやすいことの2点である。樹状細胞の投与ルートで抗原特異的免疫応答や臨床効果に差があるかどうかについては現在臨床試験が行われている¹⁰⁰⁾。リンパ節内投与では他の投与ルートよりも試験管内のアッセイでは高いT細胞刺激能が得られる結果が出ており¹⁰¹⁾、ヨーロッパの施設を中心にリンパ節内投与が推奨されるムードがあるが¹⁰²⁾、投与ルートと臨床効果の関係に関しては、いまだ明確な結果が得られていない。そのため施設ごとで様々な投与ルートが行われており、コンセンサスが得られていないのが現状である。

5. 自己樹状細胞かアロの樹状細胞か？

大部分の臨床試験では、自己由来の樹状細胞が用いられている。一方、樹状細胞と腫瘍細胞を融合させるDC/腫瘍融合細胞では、自己由来の腫瘍と自己のHLAと一致しない非自己由来の樹状細胞を融合させて投与する臨床試験が行われている。

マウス悪性黒色腫モデルでは、同系の樹状細胞に悪性黒色腫由来の抗原ペプチドやライセートをパルスしてマウスを免疫すると、ほぼ100%近く免疫後の腫瘍の生着を抑制することが可能である。一方、同様のモデルにおいてMHCが一致しない非同系の樹状細胞に悪性黒色腫由来の抗原ペプチドやライセートをパルスしてマウスを免疫した場合、免疫した後の腫瘍の生着を部分的に抑制することは可能であるが、その効果は同系の樹状細胞には及ばない。このことから、臨床試験において抗原を

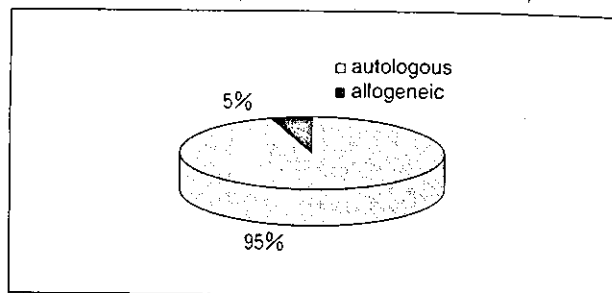


図4 DC

樹状細胞にパルスする場合は、自己由来の樹状細胞を用いるべきであると考えられる。

6. 各施設の概要

4th International Expert Meeting On Clinical Dendritic Cell Immunotherapy (2003)でのアンケート調査ではヨーロッパ、米国、日本、韓国など各国の施設における62件の臨床試験が集計された。それによれば非自己由来の樹状細胞を用いている臨床試験が3件(5%)認められるが、59件(95%)は自己由来の樹状細胞が用いられている(図4)。樹状細胞を分化誘導するための前駆細胞としては、大部分の臨床試験がleukapheresisを用いてCD14陽性の単球を採取して分化誘導している。一部の臨床試験ではCD34陽性細胞を採取して樹状細胞を分化・増殖・誘導している。樹状細胞の培養方法は、一部のヨーロッパの臨床試験ではGM-CSFとIL-13(3%)を用いて培養を行っているが、その他の試験は原則としてGM-CSFとIL-4(97%)を用いて樹状細胞を分化誘導している(図5)。現在、樹状細胞に抗原をパルスして生体内に投与する場合、成熟化させてから投与することでコンセンサスがほぼ得られており、アンケートの結果からも、ヨーロッパのグループを中心にサイトカインカクテルを使って成熟化を促す臨床試験(54%)が最も多く、次いでTNF- α (5%)やOK432、CD40L(2%)を使用する試験が認められる。しかし一方依然としてGM-CSFとIL-4で未熟な樹状細胞を誘導して生体内に投与する臨床試験(31%)も比較的多く認められる(図5)。それらの臨床試験は、ライセートを抗原としてパ

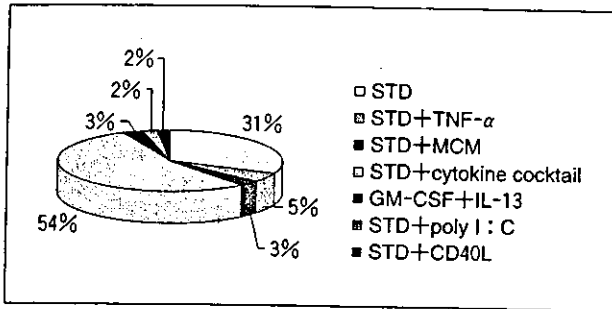


図 5 Culture condition

STD : GM-CSF + IL-4, MCM : monocyte conditioned medium, cytokine cocktail : PGE 2/IL-6/TNF- α /IL-1 β

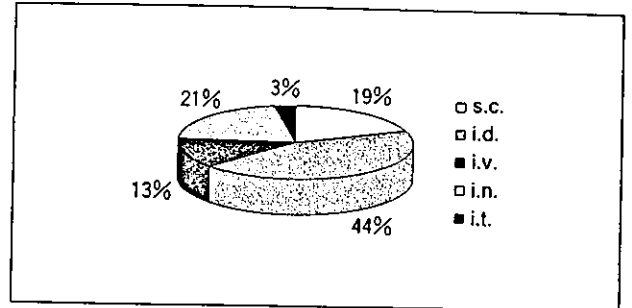


図 7 route

s.c. : subcutaneous, i.d. : intradermal, i.v. : intravenous, i.n. : intranodal, i.t. : intratumoral

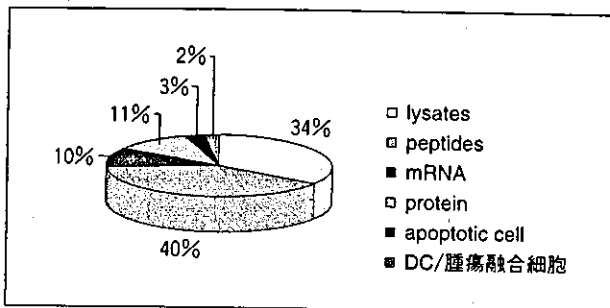


図 6 antigens

ルスしている場合が多い。抗原は40%の臨床試験がペプチドを使用しているが、ライセート(34%)や腫瘍由来RNA(10%)、タンパク質(11%)なども認められる(図6)。投与部位に関しては、いくつかの施設では投与部位の違いでの免疫応答や臨床効果の差を検討するための臨床試験を行っているため、複数回答になっているが、ヨーロッパの施設を中心にリンパ節内投与(21%)が行われている。全体としては皮内投与(44%)が最も多く、次いでリンパ節内投与(21%)、皮下投与(19%)、静脈内投与(13%)の順番となっている(図7)。

樹状細胞療法の実際(臨床試験)

1. 抗原を提示させた樹状細胞療法

悪性黒色腫、非ホジキンリンパ腫、多発性骨髄腫、前立腺癌、大腸癌、非小細胞性肺癌、原発性肝癌、腎癌、小児腫瘍を中心に臨床試験が行われており第I相・II

相臨床試験が終了して第III相臨床試験を行っている疾患もある。

2. 悪性黒色腫(melanoma)

免疫細胞療法の研究が最も進んでいる疾患の代表で、様々な施設で樹状細胞療法の臨床試験が行われている。悪性黒色腫では腫瘍関連抗原の同定が進んでおり、HLA-A 0201にマッチする抗原ペプチドが数種類同定されている。MAGE-3.A 2, tyrosinase, gp 100, MelanA/MART-1が代表的な抗原ペプチドであり、ELISPOT, tetramerなどを用いることで治療後の免疫応答を容易にモニターできる。一方、ライセートを用いた臨床試験も行われている。ライセートは試験管内での免疫応答のモニターがペプチドに比べると煩雑であるが、逆に遅延性過敏反応(DTH)を重要視する傾向が強くなる。

1998年ごろから現在までいくつかの臨床試験の結果が報告されてきている(表1)¹⁹⁾⁻²²⁾。Stage IVあるいは再発性悪性黒色腫の症例が対象であること、第I相臨床試験が多いことからどの程度の臨床効果が期待できるかは今後の第II相・III相臨床試験の結果を待たなくてはならない。HerseyらはMAGE-3.A 2, tyrosinase, gp 100, MART-1の4種類のペプチドあるいはライセートをバルスした樹状細胞療法の第I相、II相臨床試験を行い、AJCC stage IV悪性黒色腫の症例で、ライセートでは37%、ペプチドでは35%のdisease control rate (PR + SD)を認めている。

表1 悪性黒色腫に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Nestle FO ¹³	Pilot	Lysates or peptides	imDC	KLH	2 CR, 3 PR
Thurner B ¹⁴	Pilot	MAGE-3 A 1	mDC		6 tumor regression
Mackensen A ¹⁵	Phase I	peptides	mDC		NE
Panelli MC ¹⁶	Phase I	peptides	imDC	IL-2	1 PR
Lau R ¹⁷	Phase I	peptides	imDC		1 CR, 2 SD
Banchereau J ¹⁸	Phase I	peptides	mDC	KLH	NE
Chang AE ¹⁹	Phase I	Lysates	imDC	KLH	1 PR
Krause SW ²⁰	Pilot	DC/tumor hybrids	mDC		1 PR, 1 SD
Nakayama H ²¹	Phase I	Lysates	mDC	IL-2	1 SD
Hersey P ²²	Phase I/II	Lysates or peptides	imDC		Lysates : 3 PR, 4 SD Peptides : 5 SD

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response, SD : stable disease, NE : not evaluated

表2 前立腺癌に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Murphy GP ²³	Phase II	PSMA	mDC		2 CR, 6 PR
Burch PA ²⁴	Phase I	PAP	Provenge®	GM-CSF	3 pts : PSA level ↓
Small EJ ²⁵	Phase I/II	PAP	Provenge®	GM-CSF	6 pts : PSA level ↓
Fong L ¹⁹	Phase I	Mouse PAP	mDC		6 SD

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response

NIH clinical trials gov (<http://www.clinicaltrials.gov>)によると、現在 stage IV あるいは再発性悪性黒色腫に対する樹状細胞療法の4つの第II相臨床試験が進行中である。今後臨床成績が明らかになり、樹状細胞療法が悪性黒色腫に対する標準的治療の1つとして位置づけられることが期待される。

3. 前立腺癌 (prostate cancer)

樹状細胞療法の臨床試験が最も進んでいる疾患の1つである。前立腺癌では腫瘍関連抗原の同定が進んでおり、HLA-A 0201 にマッチする抗原ペプチドが同定されている。Prostate-specific membrane antigen (PSMA) ペプチド (PSM-P 1, PSM-P 2) が代表的な抗原ペプチドであり、多くの臨床試験で用いられている²³⁾。また、GM-CSF と human prostatic acid phosphatase (PAP)

との融合タンパクを抗原として用いている臨床試験も認められる(表2)¹⁰⁾²⁴⁾²⁵⁾。

米国では Dendreon Corp. (Seattle, WA) が開発を進めている APC-8015 (Provenge®) を用いた臨床試験が注目されている。ホルモン療法抵抗性の転移性進行前立腺癌を対象とした、第III相無作為化比較臨床試験 (D 9901 trial) の結果では、biopsy Gleason score が7以下のプラセボ群は time to disease progression (TTP) は9週間であるのに対して、Provenge®群はTTPが16週間で優位にTTPの延長 ($p = 0.002$) が認められている。またProvenge®群では、プラセボ群に対して高いT細胞性免疫応答が認められ、T細胞性免疫応答と治療効果に相関が認められている。現在Provenge®を用いた2番目の多施設共同第III相無作為化比較臨床試験が、ホルモン療法抵抗性転移性進行前立腺癌でかつ biopsy Gleason

表3 腎細胞癌に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Rieser C ²⁶	Pilot	lysates	mDC	KLH	1 CR, 2 SD
Oosterwijk-Wakka JC ²⁷	Phase I	lysates	imDC	KLH/IL-2	No clinical response
Marten A ²⁸	Phase I/II	lysates	mDC	KLH	1 PR, 7 SD
Marten A ²⁹	Phase I/II	DC/tumor hybrids	mDC		4 SD
Su Z ³⁰	Phase I	Tumor RNA	mDC		NE
Gittliz BJ ³¹	Phase I	lysates	imDC		1 PR
Hofli L ³²	Phase I	lysates	mDC		2 CR, 1 PR, 7 SD

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response, NE : not evaluated

表4 脳腫瘍に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Yamanaka R ³⁷	Phase I/II	lysates	mDC		4 SD
Yu JS ³⁸	Phase I	peptides	imDC		NE
Kikuchi T ³⁹	Phase I	DC/tumor hybrids	imDC		2 PR

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response, NE : not evaluated

score が7以下の症例を対象に進行中である。

また T1-3, N0-1, M0 の progressive prostate cancer を対象に, Provenge® と bevacizumab を併用した第 II 相臨床試験が進行中である。

Murphy らは PSMA を用いた樹状細胞療法の第 II 相臨床試験を報告しており, ホルモン療法抵抗性の転移性進行前立腺癌で 30%以上の overall response rate (CR + PR) が認められている。

4. 腎細胞癌(Kidney cancer)

腎細胞癌は同定された腫瘍関連抗原がないため, ライセートを用いた樹状細胞療法や自己腫瘍と自己の樹状細胞や非自己由来の樹状細胞を融合した DC/腫瘍融合細胞を用いた臨床試験が行われている(表3)²⁶⁾⁻³²⁾。

NIH clinical trials gov (<http://www.clinicaltrials.gov>) によると現在 stage III or IV あるいは再発性腎細胞癌に対する樹状細胞療法の3つの第 I 相・II 相臨床試験が進行中である。今後臨床成績が明らかになり, 樹状細胞

療法が腎細胞癌に対する標準的治療の1つとして位置づけられることが期待される。

5. 大腸癌(colorectal cancer)

CEA 由来ペプチド³³⁾, CEA 由来 mRNA³⁴⁾, 腫瘍由来 RNA³⁵⁾ を抗原とした樹状細胞療法の第 I 相, II 相臨床試験が行われている。Morse らは CEA mRNA を樹状細胞内に移入して 24 症例中 1 例の CR, 5 例の SD を認めたと報告している。Fong らは HLA-A 0201 にマッチした CEA 由来ペプチドを用いた樹状細胞療法で 12 症例中 2 例に PR, 3 例に SD を認めたと報告している。

NIH clinical trials gov (<http://www.clinicaltrials.gov>) によると現在 HLA-A 0201 にマッチングした, Ras mutation を認める転移性大腸癌あるいは高度進行大腸癌に対して変異 Ras ペプチドを用いた第 I 相・II 相臨床試験が進行中である。

表5 血液悪性腫瘍に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Cull G ⁴⁰	Pilot	Id	imDC	GM-CSF	NE
Takahashi T ⁴¹	Pilot	bcr-abl peptide	imDC/mDC		no response
Fujii S ⁴²	Pilot	Tumor cells	mDC	primed T cells	NE
Yi Q ⁴³	Pilot	Id	mDC		1 PR, 3 SD
Reichardt VL ⁴⁴	Phase I	Id	imDC	Id/KLH	NE
Lim SH ⁴⁵	Pilot	Id	imDC	KLH	NE
Reichardt VL ⁴⁶	Phase I	Id	imDC	Id/KLH/ GM-CSF	NE
Maier T ⁴⁷	Pilot	lysates	mDC	KLH	1 CR, 4 PR
Timmerman JM ⁴⁸	Phase I	Id	mDC	Id/KLH	

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response, SD : stable disease, NE : not evaluated, Id : idiotype protein

表6 その他の悪性腫瘍に対する樹状細胞療法の臨床試験

authors	trial	Antigens	DCs	Helper/ adjuvant	Clinical response
Stift A ⁴⁹	Phase I	lysates	mDC	IL-2	no response
Sadanaga N ⁵⁰	Phase I	MAGE-3 peptide	mDC		3 SD
Itoh T ⁵¹	Phase I	CEA peptide	imDC	IFN- α / TNF- α	2 SD
Kono K ⁵²	Phase I	HER-2 peptide	mDC		1 PR, 1 SD
Iwashita Y ⁵³	Phase I	lysates	mDC	KLH	1 PR
Hernando JJ ⁵⁴	Phase I	lysates	mDC	KLH	3 SD

imDC : immature DC, mDC : mature DC, CR : complete response, PR : partial response

6. 小児悪性腫瘍 (pediatric solid tumors)

Geigerらは、ライセートを抗原とした樹状細胞療法の第I相臨床試験を報告している³⁶⁾。標準療法が無効であった3歳から17歳までの神経芽細胞腫、肉腫あるいは腎由来悪性腫瘍の15症例で樹状細胞療法を行い、3回の治療を完遂した10症例の内1症例がPR、5症例がSDであった。小児悪性腫瘍に対して、樹状細胞療法が標準治療の1つになる可能性が示されている。

7. 脳腫瘍 (brain tumor)

難治性の glioblastoma, anaplastic gliomaなどを対象として樹状細胞療法の臨床試験が行われている(表4)³⁷⁾⁻³⁹⁾。Yamanakaらは7例の glioblastomaと2例の anaplastic gliomaを対象に、ライセートを抗原とした樹状細胞療法の第I相臨床試験を行い、4例のSDを認め

ている。Kikuchiらは8例の malignant gliomaを対象に、DC/腫瘍融合細胞を用いた樹状細胞療法の第I相臨床試験を行い、2例のPRを認めている。

NIH clinical trials gov (<http://www.clinicaltrials.gov>)によると、現在 glioblastoma multifome, anaplastic astrocytoma, 再発性脳腫瘍に対する樹状細胞療法の第I相臨床試験が進行中である。

8. 血液悪性腫瘍 (hematological malignancies)

多発性骨髄腫 (multiple myeloma : MM) や B細胞性リンパ腫などを対象に、MM や B細胞性リンパ腫に由来する idiotype protein (Id) を抗原として、樹状細胞療法の臨床試験が行われている(表5)⁴⁰⁾⁻⁴⁸⁾。

Nestleらは皮膚T細胞性リンパ腫を対象に、ライセートを抗原とした樹状細胞療法のパイロット試験を行い、