

明敏, 水田英司, 小倉寛, 佐野昭子, 岡正朗  
PSK による大腸癌術後補助免疫化学療法の  
Responder 判定におけるエビデンス 癌と化学  
療法 32 : 1568-1570 2005.

河岡徹, 吉野茂文, 近藤浩史, 山本光太郎, 裕彰  
一, 岡正朗 癌性胸腹水に対する  
Lentinan+OK-432 胸腹腔内反復投与の臨床的検  
討 癌と化学療法 32 1565-1567、2005.

裕彰一, 岡正朗 侵襲後の免疫不全 病態と治療  
外科治療 巻 5 号 1028-1034、2005.

## 2. 学会発表

(発表誌名巻号・頁・発行年等も記入)

河岡 徹、山本光太郎、吉野茂文、裕 彰一、丹  
黒 章、岡 正朗 「腺癌に対する MUC1-CTL  
を用いた術後補助免疫療法」; p 483

第 105 回日本外科学会定期学術集会  
2005(H17 年)

近藤浩史、裕 彰一、吉野茂文、佐野昭子、須賀  
哲也、須賀泰世、岡 正朗 「レンチナン(LNT)-  
単球結合率の個人差からみた LNT 有効症例選別  
の可能性」; p 91

第 26 回癌免疫外科研究会 東京 2005(H17  
年)

吉野茂文、裕彰一、山本達人、鈴木道成、平澤克  
敏、小倉寛、足立淳、森岡秀之、矢原昇、長谷川  
博康、多田耕輔、福田進太郎、上山吉哉、岡正朗  
多施設共同研究による微粒子化 Lentinan の進行  
癌患者に対する QOL 改善効果の検討」; p 91  
第 43 回日本癌治療学会総会 名古屋 2005(H17  
年)

得能和久、吉野茂文、裕彰一、山本光太郎、河岡  
徹、近藤浩史、岡正朗 「消化器癌化学療法に免  
疫療法を併用する意義—QOL および Th1/2

バランスの観点から—」; P58 第 18 回日本バイ  
オセラピー学会学術集会総会 山口 2005(H17  
年)

## G. 知的財産権の出願・登録状況

(予定を含む。)

### 1. 特許取得

なし

研究成果の刊行に関する一覧表

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版年	ページ
裕 彰一、 岡 正朗	癌の補助療法(免疫など)	跡見 裕 門田守人 炭山嘉伸	消化器外科レビュー	株式会社 総合医学社	東京	2005.4.	197-201
長島由紀子、山本光太郎、矢原昇、河岡徹、 岡 正朗	膀胱癌における治療方法とその成績	佐治重豊	これだけは知っておきたい癌の免疫化学療法	医薬ジャーナル社	大阪	2005.5.	97-103
上田祐二、 山岸久一	癌ワクチン療法	佐治重豊	これだけは知っておきたい癌の免疫化学療法	医薬ジャーナル社	大阪	2005.5.	169~176

研究成果に刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Oka M. Hazama S.	MUC1 peptide vaccination in patients with advanced pancreas or biliary tract cancer.	Anticancer Res.	25(5)	3575-9	2005
Oka M.	Immunological evaluation of personalized peptide vaccination for patients with pancreatic cancer.	Oncol Rep.	13(5)	874-83	2005
岡 正朗 裕 彰一	ヒト単球のレンチナン結合能測定法ならびに簡便法の確立.	Biotherapy	20(1)	79-83	2006
岡 正朗	手術侵襲と免疫	侵襲と免疫	15(1)	20-23	2006
岡 正朗 裕 彰一	PSK による大腸癌術後補助免疫化学療法の Responder 判定におけるエビデンス	癌と化学療法	32	1568-1570	2005
岡 正朗 裕 彰一	癌性胸腹水に対する Lentinan+OK-432 胸腹腔内反復投与の臨床的検討	癌と化学療法	32	1565-1567	2005
岡 正朗 裕 彰一	侵襲後の免疫不全 病態と治療	外科治療	92(5)	1028-1034	2005
有賀 淳	選択的培養法によるNK細胞療法の新展開	Biotherapy	19(4)	317-324	2005
有賀 淳	悪性腫瘍に対する抗体併用細胞療法の基礎的検討	Biotherapy	19(5)	430-434	2005
有賀 淳	術後肝癌再発抑制を目指した樹状細胞療法	BIO Clinica	21(2)	25-29	2006
有賀 淳	皮内反応は腫瘍抗原に対する特異的免疫反応と臨床効果の指標になるか	Biotherapy	20(2),	190-196	2006
有賀 淳	バイオセラピーにおけるQOL評価のための調査票—FACT-BRM 日本語版の開発—	Biotherapy	20(2)	217-222	2006

研究成果に刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Yamaguchi Y	Postoperative Immunosuppression Cascade and Immunotherapy using Lymphokine-activated Killer Cells for Patients with Esophageal Cancer-Possible Application for Compensatory Anti-Inflammatory Response Syndrome-	Oncology Rep	15	895-901	2006
Yamaguchi Y	Feasibility study of adoptive immunotherapy for metastatic lung tumors using peptide-pulsed dendritic cell-activated killer (PDAK) cells.	Anticancer Res.	25	2407-15	2005
Yamaguchi Y	Generation of Antigen Presenting Cells using Cultured Dendritic Cells and Amplified Autologous Tumor-mRNA.	Oncology	69	399-407	2005
Katano M	Exosomes secreted from monocyte-derived dendritic cells support in vitro naïve CD4 <sup>+</sup> T cell survival through NF- $\kappa$ B activation.	Cell Immunol	231	20-9	2004
Katano M	Effects of docetaxel on antigen presentation-related functions of human monocyte-derived dendritic cells.	Cancer Immunol Pharmacol	55	479-87	2005
Katano M	Combination therapy of tumor cell-pulsed dendritic cells and activated lymphocytes for patients with disseminated carcinomas.	Anticancer Res.	25	3771-6	2005
Katano M	Purification, characterization and biologic significance of tumor-derived exosomes.	Anticancer Res.	25	3703-8	2005
Katano M	Evaluation of a dysfunctional and short-lived subset of monocyte-derived dendritic cells from cancer patients.	Anticancer Res.	25	3445-51	2005

研究成果に刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
片野光男	樹状細胞 (DC) ワクチン療法の現況と将来.	Biotherapy	19	330-338	2005
片野光男	乳癌に対する Herceptin + 細胞免疫化学療法の可能性.	Biotherapy	19	424-429	2005
Ueda U	Titration of serum p53 antibody in patients with gastric cancer : a single institute study of 40 patients.	Gastric Cancer	8(4)	214-219	2005
上田祐二	「癌の細胞療法」～変遷と今後の展開～.	Biotherapy	19	115-124	2005
上田祐二	担癌ラットにおける免疫抑制物質吸着繊維カラムの細胞性免疫能増強効果	癌と化学療法	32(11)	1583-5	2005
Kono K	A newly identified MAGE-3 derived, HLA-A24 restricted peptide is naturally processed and presented as a CTL epitope on MAGE-3-expressing gastrointestinal cancer cells.	Oncology	70	54-62	2006
Kono K	Substitution analog peptide derived from HER-2 can efficiently induce HER-2-specific, HLA-A24 restricted CTLs.	Cancer Immunology and Immunotherapy			In press
Kono K	CD4(+)CD25 <sup>high</sup> regulatory T-cells in patients with gastric and esophageal cancers.	Immunology and Immunotherapy			In press
Kono K	Protein overexpression and gene amplification of <i>EGFR</i> in squamous cell carcinomas of the esophagus.	International Journal of Cancer	118(5)	1173-80	2005
Kono K.	Frequencies of HER-2/neu expression and gene amplification in patients with esophageal squamous cell carcinoma	British Journal of Cancer	92	1253-60	2005

研究成果に刊行に関する一覧表

雑誌

発表者 氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻 号	ページ	出版年
Kono K.	Trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity against esophageal squamous cell carcinoma.	Clinical Cancer Research.	11	4898-4904	2005
Heike Y	Expansion of $\alpha$ -Galactosylceramide-Stimulated V $\alpha$ 24 <sup>+</sup> NKT Cells Cultured in the Absence of Animal Materials.	Journal of Immunotherapy	28	314-321	2005
Heike Y	Efficient <i>ex vivo</i> expansion of V $\alpha$ 24 <sup>+</sup> NKT cells derived from G-CSF-mobilized blood cells	Journal of Immunotherapy			In press

### 3. 癌の補助療法 (免疫など)

はざま しょういち おか まさあき  
山岡 裕 彰一, 岡 正朗  
山口大学 消化器・腫瘍外科 (第二外科)

#### 最近の動向

癌免疫療法を中心は樹状細胞や腫瘍関連抗原を用いた特異的免疫療法であるが、その限界もすでに明らかとなってきた。その打開策として、非特異的免疫療法、免疫逃避機構の解除、抗体療法などが注目されている。生体内で免疫寛容を獲得している癌組織に対して、再び宿主の抗腫瘍免疫を復活させるためには集学的な戦略が重要であり、単独治療から複合免疫療法の重要性が再確認されてきた。

#### 癌免疫療法

癌免疫療法により抗腫瘍効果が得られるためには、癌を抗原特異的あるいは非特異的に選別認識する効果細胞 (免疫細胞) が生体内に存在し、効果細胞が腫瘍局所に移動し、腫瘍に結合してこれを破壊する必要がある。このうちのどのステップが欠けても抗腫瘍免疫は成立しない。これらの過程における問題点 (腫瘍の免疫逃避機構) と、それに対する解決策について最新の文献を取り上げて考察してみたい。

##### 1. 腫瘍関連抗原

分子生物学ならびに遺伝子工学の進歩により飛躍的に多くの腫瘍関連抗原ならびにペプチドが同定されており、癌ワクチン療法に臨床応用されているが、HLA-A2, A24 以外のペプチドに関する研究は少ない。今回胃癌浸潤リンパ球を用いて immediate early response gene X-1 (IEX-1) (細胞増殖やアポトーシスに関連したストレス誘導性蛋白) の HLA-A33 拘束性エピトープが発見された。IEX-1は様々な腫瘍において蛋白レベルで発現しているが、正常上皮細胞や間質細胞では発現しておらず、HLA-A33 をもつ胃癌をはじめ多くの癌患者に対するペプチドワクチン療法の選択枝が広がった<sup>1)</sup>。

肝細胞癌関連の HCA661 抗原遺伝子が同定され、これを導入した樹状細胞を用いた癌ワクチン療法が肝細胞癌患者に対して施行され、臨床的に CTL の誘導が確認された<sup>2)</sup>。血清中に高濃度の抗原が存在すると免疫寛容が誘導されやすいとされているが、AFP 高値 HCC 症例に対して4種類の HLA-A0201 拘

- 1) Sasada T, Takedatsu H, Azuma K et al : Immediate early response gene X-1, a stress-inducible antiapoptotic gene, encodes cytotoxic T-lymphocyte (CTL) epitopes capable of inducing human leukocyte antigen-A33-restricted and tumor-reactive CTLs in gastric cancer patients. *Cancer Res* 64 : 2882-2888, 2004
- 2) Chan RC, Pang XW, Wang YD et al : Transduction of dendritic cells with recombinant adenovirus encoding HCA661 activates autologous cytotoxic T lymphocytes to target hepatoma cells. *Br J Cancer* 90 : 1636-1643, 2004

束性ペプチドを投与したところ、すべての患者でほとんどのペプチドに対する CTL が誘導された<sup>3)</sup>。

heat shock protein (Hsp) 70 は様々な腫瘍で過剰発現しており、正常組織での過剰発現はほとんどみられないことから、腫瘍抗原とみなすことができる。新たな HLA-A0201 に高親和性のペプチドを用いて Hsp70 を認識する CTL が誘導され、HSP70 過剰発現腫瘍を HLA-A0201 拘束性に障害することが確認された。また、腫瘍浸潤リンパ球からも Hsp70 に対する CTL が誘導されたことから、HSP-70 をターゲットとした免疫療法が多くの種類の癌治療に応用可能と期待される<sup>4)</sup>。

Cytochrome P450 1B1 (CYP1B1) は肝外性の薬剤代謝酵素であるが、最近多種類の癌細胞で過剰発現していることが示され、腫瘍関連抗原としての有用性が検討された。HLA-A0201 拘束性のペプチドが同定され、抗原特異的な CTL の誘導が健常者ならびに癌患者で確認された<sup>5)</sup>。

大腸癌に関する腫瘍抗原はあまり同定されておらず、大腸癌免疫療法の選択肢は多くない。大腸癌患者末梢血の CD4+T 細胞クローンが class II 拘束性に認識する抗原が同定され colorectal tumor-associated antigen-1 (COA-1) と命名された。COA-1 遺伝子は大腸癌、黒色腫等の腫瘍細胞だけでなく B 細胞や線維芽細胞にも同等に発現しているが、CTL は腫瘍細胞にのみ反応する。この理由として、癌細胞と正常細胞では一塩基の置換があり、このため細胞内移送やプロセシングに差があるためではないかと考えられている<sup>6)</sup>。

Epidermal Growth Factor Receptor (EGFR) は様々な上皮性腫瘍に過剰発現しており腫瘍増殖シグナル受容体となっていることから、分子標的治療として多くの機能抑制性の抗 EGFR 抗体が開発され、癌治療に貢献している。EGFR が腫瘍において過剰発現していることから、これは腫瘍関連抗原とみなすことができ、HLA-A2 拘束性のペプチドが報告された<sup>7)</sup>。今後、EGFR 過剰発現腫瘍に対するワクチン療法に期待される。以前から乳癌では EGFR の一種である HER-2 の発現と予後の関連が示され抗 HER-2 抗体を用いた治療が行われているが、大腸癌においても同様の検討がなされた。Dukes' B / C 大腸癌 170 例の免疫組織化学染色により約 40 % の症例で細胞膜が強く染色され、54 % で細胞質が強陽性となった。細胞質が強く染色された Dukes' C 症例では予後が有意に良好であった。HLA-A2 拘束性ペプチドを用いたワクチン療法や細胞膜上の HER-2 抗原に対する抗体療法が大腸癌に対しても有効である可能性が示唆された<sup>8)</sup>。

多くの消化器癌では gastrin CCK2 receptor を発現しており autocrine あるいは endocrine された Gastrin-17 (G17) により癌細胞の増殖が促進される。そこで G17 制御を目的として、これに対する抗体産生を促す G17DT を、大腸癌 158 例、胃癌 102 例、膵癌 152 例に投与したところ、G17 に対する抗体

3) Butterfield LH, Ribas A, Meng WS et al : T-cell responses to HLA-A\*0201 immunodominant peptides derived from alpha-fetoprotein in patients with hepatocellular cancer. *Clin Cancer Res* 9 : 5902-5908, 2003

4) Faure O, Graff-Dubois S, Bretaudeau L et al : Inducible Hsp70 as target of anticancer immunotherapy : Identification of HLA-A\*0201-restricted epitopes. *Int J Cancer* 108 : 863-870, 2004

5) Maecker B, Sherr DH, Vonderheide RH et al : The shared tumor-associated antigen cytochrome P450 1B1 is recognized by specific cytotoxic T cells. *Blood* 102 : 3287-3294, 2003

6) Maccalli C, Li YF, El-Gamil M : Identification of a colorectal tumor-associated antigen (COA-1) recognized by CD4 (+) T lymphocytes. *Cancer Res* 63 : 6735-6743, 2003

7) Shomura H, Shichijo S, Matsueda S et al : Identification of epidermal growth factor receptor-derived peptides immunogenic for HLA-A2 (+) cancer patients. *Br J Cancer* 90 : 1563-1571, 2004

8) Essapen S, Thomas H, Green M et al : The expression and prognostic significance of HER-2 in colorectal cancer and its relationship with clinicopathological parameters. *Int J Oncol* 24 : 241-248, 2004



価が上昇した症例では上昇しなかった症例よりも有意に長期生存したことが、いずれの癌腫においても示された<sup>9)</sup>。抗体価上昇により延命効果が得られたこと的作用機所として、G17 濃度の低下により gastrin CCK2 receptor を介した腫瘍細胞増殖シグナルの制御、G17 産生腫瘍に対する液性免疫としての直接効果、抗体産生に繋がる免疫監視機構の存在、等が推察される。

## 2. 腫瘍特異免疫の誘導

腫瘍特異的免疫療法では、治療効果を把握するために生体内で起きている抗腫瘍免疫反応を捉えることが重要である。新たに患者末梢血から腫瘍細胞傷害性 T 細胞 (CTL) を CD107a をマーカーとしてフローサイトメトリで単離する方法が開発された。本法によりワクチン療法後に活性化された CTL を同定分離することが可能となり、CTL 活性と臨床効果が相関することが示された。さらに単離した CTL を *ex vivo* で抗腫瘍活性を保ったまま増殖させることにも成功した<sup>10)</sup>。この技術は腫瘍特異的免疫療法を施行した患者の免疫モニタリングのみならず、癌免疫細胞療法における効果細胞の収集にも利用できるため極めて有用であると考えられる。

腫瘍抗原の提示は抗原提示細胞 (APC) から T 細胞へと行われる。なかでも樹状細胞はプロフェッショナル APC として免疫療法の中心的存在を維持している。腫瘍細胞と樹状細胞の融合細胞を用いたワクチン療法は数少ない既知の腫瘍抗原のみならず自己腫瘍がもつすべての腫瘍抗原を提示することが可能と考えられる。癒合細胞を用いたワクチン療法を 9 人の進行再発胃癌患者に施行したところ、毒性は全く認められず、5 人の患者で病勢の進行が停止した。また、半数以上の患者において、腫瘍に対する遅延型皮膚反応が誘導され、免疫指標の改善が認められた<sup>11)</sup>。本療法は新しい免疫療法として高い期待が寄せられている。また、腫瘍あるいは腫瘍抗原 mRNA 導入樹状細胞は抗原を MHC class I ならびに class II 拘束性に提示し、抗原特異的 CD8 + ならびに CD4 + T 細胞を同時に活性化させることが可能であり、新たなワクチン療法として期待されている。これまでの研究からすでに抗原 mRNA 導入樹状細胞は抗原エピトープをプロセッシングしてこれを提示できること、*in vitro* にて抗腫瘍免疫反応を誘導できること、ワクチン療法としても有望であることが示されてきた<sup>12)</sup>。

成熟樹状細胞の誘導は抗腫瘍免疫成立に重要なステップであるが、これが臨床応用においては様々な制限をもたらしており、未熟樹状細胞での投与が可能となれば治療はより簡便化される。*ex vivo* における成熟樹状細胞の誘導は試験管内で炎症の場を模擬作成して行っていることから、炎症の場を生体内に模擬作成した局所に未成熟樹状細胞を注入することで生体内での樹状細胞の成熟を促し、効率の良い抗腫瘍免疫誘導が可能となるかを検討した。同位元素でラベルした未成熟樹状細胞を起炎性物質で前処置した局所に投与したところリン

9) Broome P, Buck RD and Michaeli D : Immune response to Gastrin-17 is an independent covariate in determination of survival in colorectal, gastric and pancreatic cancers. Proc ASCO 23 : (abstr No : 4073), 2004

10) Rubio V, Stuge TB, Singh N et al : *Ex vivo* identification, isolation and analysis of tumor-cytolytic T cells. Nat Med 9 : 1377-1382, 2003

11) Okinaga K, Iinuma H, Ogiwara T et al : A phase I study of immunotherapy with tumor cell-dendritic cell fusion vaccine in patients with advanced or recurrent gastrointestinal cancer. Proc ASCO 23 : (abstr No: 2615), 2004

12) Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, Bemerman ZN : Cancer immunotherapy using RNA-loaded dendritic cells. Clin Exp Immunol 134 : 378-384, 2003

パ節への移動は *ex vivo* で成熟させた樹状細胞よりも良好であることが示された<sup>13)</sup>.

HLA ミスマッチの Mesothelin 発現同種腫瘍細胞を用いたワクチン療法により、ワクチン療法を受けた肺癌患者に HLA 拘束性の Mesothelin 特異的 CD8 陽性 T 細胞の誘導が確認された。このことは患者の抗原提示細胞が貪食した移植腫瘍の抗原を HLA class I 拘束性に提示し特異免疫を誘導できることを意味する。以前から自己腫瘍細胞が入手できない場合、同種腫瘍細胞を腫瘍抗原として用いる試みが行われてきたが、HLA ミスマッチ腫瘍株により HLA class I 拘束性の特異免疫誘導が科学的に示されたのはこれが初めてである<sup>14)</sup>。

患者血清中には様々な腫瘍関連抗原が存在すると考えられる。そこで樹状細胞の誘導に際して培養液中に患者血清を添加することで腫瘍抗原の提示が可能になるか否かを検討したところ、抗原特異的なリンパ球誘導が *in vitro* で可能となった。さらにこの樹状細胞を用いたワクチン療法を 17 人の肺癌患者に行ったところ 5 人の患者で抗腫瘍効果が得られた<sup>15)</sup>。GMP grade の観点からも樹状細胞誘導には患者自己血清を用いることが推奨される。

効率的な抗腫瘍免疫の誘導には樹状細胞に発現する CD40 と T 細胞に発現する CD40 ligand (CD40L) の相互作用が重要である。そこで PHA とイオノマイシンで活性化した CD40L 高発現 T 細胞を未熟樹状細胞と混合培養して検討したところ、著明な IL-12 ならびに IFN- $\gamma$  産生が認められ、樹状細胞の成熟とリンパ球の活性化が同時に得られた。この活性化は抗 CD40L 抗体あるいは非接触性培地でブロックされることから CD40 と CD40L の相互作用であることが確認された<sup>16)</sup>。活性化自己リンパ球を GMP grade の CD40L 供給源とする新たな戦略が考えられる。

特異免疫誘導に関連するサイトカインとして、IL-15 が注目されている。IL-15 は IL-2 に似た機能を持ち T 細胞増殖を誘導するが、IL-2 は CD8+ メモリー T 細胞にアポトーシスを誘導するのに対して IL-15 はメモリー T 細胞の維持と抗アポトーシス作用をもつ重要なサイトカインである。IL-15 高産生腫瘍を用いたワクチン療法により腫瘍特異的な長期間にわたる CD8+ T 細胞を介した免疫が誘導されることが報告された<sup>17)</sup>。また、IL-15 の投与により CD8+ T 細胞の移入による抗腫瘍免疫が増強されることも報告されており<sup>18)</sup>、今後の細胞免疫療法において期待される。

### 3. 腫瘍の免疫逃避機構とその対策

腫瘍抗原特異的免疫療法は理想ではあるが、腫瘍の免疫逃避メカニズムとして腫瘍細胞における腫瘍抗原や HLA class I 分子の部分的あるいは完全な欠失が認められており<sup>19)</sup>、抗原特異的免疫療法の限界は明らかである。したがって腫瘍抗原を特定しない、HLA 非拘束性の免疫療法が重要となる。非特異的免疫療法として効果をあげているものに、宿主の免疫を枯渇させずに行う HLA

- 13) Nair S, McLaughlin C, Weizer A et al : Injection of immature dendritic cells into adjuvant-treated skin obviates the need for *ex vivo* maturation. J Immunol 171 : 6275-6282, 2003
- 14) Thomas AM, Santarsiero LM, Lutz ER et al : Mesothelin-specific CD8 (+) T cell responses provide evidence of *in vivo* cross-priming by antigen-presenting cells in vaccinated pancreatic cancer patients. J Exp Med 200 : 297-306, 2004
- 15) Nesselhut T, Chang RY, Matthes C et al : Cancer therapy with unloaded monocyte-derived dendritic cells in patients with inoperable pancreatic and gall bladder cancer. Proc ASCO 23 : (abstr No : 2569), 2004
- 16) Sato T, Terai M, Yasuda R et al : Combination of monocyte-derived dendritic cells and activated T cells which express CD40 ligand : a new approach to cancer immunotherapy. Cancer Immunol Immunother 53 : 53-61, 2004
- 17) Araki A, Hazama S, Yoshimura K et al : Tumor secreting high levels of IL-15 induces specific immunity to low immunogenic colon adenocarcinoma via CD8+ T cells. Int J Mol Med 14 : 571-576, 2004
- 18) Klebanoff CA, Finkelstein SE, Surman DR et al : IL-15 enhances the *in vivo* antitumor activity of tumor-reactive CD8+ T cells. Proc Natl Acad Sci USA 101 : 1969-1974, 2004
- 19) Khong HT, Wang QJ, Rosenberg SA : Identification of multiple antigens recognized by tumor-infiltrating lymphocytes from a single patient : tumor escape by antigen loss and loss of MHC expression. J Immunother 27 : 184-190, 2004

合致同種幹細胞移植があり、腎癌などで良好な成績を収めている。消化器癌に対しては本療法を行った他治療無効の膵癌患者 6 例中 1 例に CR, 1 例に PR, 2 例に SD を、また大腸癌患者 1 例に PR が得られており、特に腫瘍抗原を必要としない非特異的細胞移入療法として注目される<sup>20)</sup>。

免疫寛容に関する重要な分子として、Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4 ; CD152) が知られている。CTLA-4 は活性化T細胞や CD4+CD25+ T 細胞の一部に発現している免疫抑制性分子であり、進行癌患者の CD4+T 細胞ならびに CD8+T 細胞で増加しており、抗腫瘍免疫抑制性に働いていると考えられている。また、腫瘍抗原を用いたワクチン療法を施行した患者において CTLA-4 陽性T細胞の割合が多い患者の予後は明らかに不良である<sup>21)</sup> ことから、抗 CTLA-4 抗体を用いた CTLA-4 陽性T細胞の制御により抗腫瘍免疫の増強がもたらされると考えられる。しかしながら一方で抗 CTLA-4 抗体は、自己正常組織に対する免疫寛容システムをも破壊するため自己免疫疾患をひき起こす両刃の剣となり、その臨床応用にはさらなる安全性の追求が必須である。抗 CTLA-4 抗体 (MDX-010) を用いた第 I 相試験が行われ 3 mg/kg の 2 ヶ月に 1 回投与においては有意な毒性を認めなかった。卵巣癌患者ではあるが、過去に GM-CSF 遺伝子導入自己腫瘍細胞を用いたワクチン療法を受けた患者では、1 例に著明な腫瘍サイズと腫瘍マーカーの低下を認め、他は SD であった<sup>22)</sup>。他の腫瘍特異的免疫療法と抗 CTLA-4 抗体との組合せに期待される。

リンパ球を枯渇させる化学療法後に多量の腫瘍応答性リンパ球を細胞移入することにより難治性メラノーマ患者の半数以上に PR を、約 1 割に CR を得たとする報告がなされた。まず化学療法により免疫抑制性の regulatory T cell (Treg) を枯渇させた宿主環境に活性化抗腫瘍リンパ球を投与できたことが良好な治療効果につながったものと考えられる<sup>23)</sup>。この治療概念は消化器癌にも応用可能であり、癌患者における免疫抑制とその解除が重要であることを示したものである。

## おわりに

癌免疫療法は理論的には癌を追いつめた。臨床効果も目に見えるものとなってきた。しかしながら、未だ抗腫瘍免疫の誘導、腫瘍縮小率、延命効果のいずれにおいても満足できるものとは言い難い。ブレイクスルーのキーワードとして「複合免疫療法」を再び提案したい。

20) Muta K, Ito T, Abe Y et al : Non-meloablative allogeneic stem cell transplantation as immunotherapy for pancreatic cancer and other solid tumors. Proc ASCO 23 : (abstr No : 2539 ), 2004

21) Faries MB, Hsueh EC, Shu S et al : Post-vaccination CTLA-4 expression correlates inversely with survival in patients vaccinated with allogeneic melanoma cell vaccine. Proc ASCO 23 : (abstr No : 2565), 2004

22) Hodi FS, Seiden M, Butler M et al : Cytotoxic T lymphocyte-associated antigen-4 (CTLA-4) antibody blockade in patients previously vaccinated with irradiated, autologous tumor cells engineered to secrete granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF). Proc ASCO 23 : (abstr No : 2536), 2004

23) Rosenberg SA, Dudley ME : Cancer regression in patients with metastatic melanoma after the transfer of autologous antitumor lymphocytes. Proc Natl Acad Sci USA 101 : 14639-14645, 2004

## 5. 膵癌における治療方法とその成績

### はじめに

近年の手術技術の向上により、膵癌の予後は徐々に改善されつつあるが、膵癌全国登録調査報告によると、治癒切除例でも5年生存率は約13%にすぎない<sup>1)</sup>。膵癌患者の大多数は発見時、すでに高度局所進展や肝転移、腹膜播種のため切除不能であり、これらに対して放射線療法や免疫化学療法などによる集学的治療が行われているが、ほとんど効果を認めていないのが現状である。

われわれは従来より、膵癌に対する免疫療法として、LAK細胞、自己腫瘍により誘導したCTL、MUC1高発現細胞株 YPK-1 を用いた MUC1-CTL 療法などの細胞療法を施行してきた。

また、抗原提示細胞として注目されている DC が、腫瘍特異的免疫応答を誘導できることに着目し、最近では MUC1 ペプチド刺激樹状細胞 (MUC1-DC) を用いた細胞療法を新たに施行している。

本項では、われわれの行っている膵癌に対する細胞療法と新たな免疫療法としての癌ワクチン療法の方法および治療成績、ならびに膵癌に対する化学療法について概説する。

### 1. LAK 療法

切除不能膵癌に対し、以前は単に IL-2 刺激によりリンパ球を活性化させる LAK 療法が行われていたが、これは膵癌に対して非特異的免疫療法である。表1にわれわれが以前、切除不能あるいは再発膵癌患者5例に行った LAK 療法の治療結果を示す。PD 3例、NC 2例と効果を認めなかった<sup>2), 3)</sup>。

表1 LAK細胞療法を行った切除不能膀胱癌患者

症例	年齢	性別	Source	移入細胞数	成績	生存期間
1	62	女	LN	$5.0 \times 10^6$	PD	1Y4M
2	67	男	LN	$5.0 \times 10^6$	PD	5M
3	63	男	spleen	$1.0 \times 10^9$	PD	1M
4	42	男	spleen	$5.4 \times 10^6$	NC	4M
5	53	男	spleen	$2.8 \times 10^9$	NC	4M

LN (lymph node : リンパ節), spleen (脾臓)

表2 自己腫瘍誘導 CTL 療法を行った切除不能膀胱癌患者

症例	年齢	性別	Source	移入細胞数	成績	生存期間
1	68	女	LN	$1.0 \times 10^6$	PR	1Y1M
2	58	男	PBMC	$2.6 \times 10^6$	PR	1Y8M
3	53	男	PBMC	$6.3 \times 10^6$	PR	4M
4	49	男	spleen	$6.0 \times 10^9$	NC	6M
5	76	女	spleen	$1.0 \times 10^9$	NC	4M
6	68	男	PBMC	$1.9 \times 10^9$	NC	7M
7	76	女	PBMC	$3.9 \times 10^6$	NC	2M
8	66	男	PBMC	$4.0 \times 10^6$	NC	6M

## 2. 自己腫瘍誘導 CTL 療法

### 1) 方法

手術時あるいは癌性胸腹水から得られた自己腫瘍と自己リンパ球を混合培養し, CTL を誘導する。

### 2) 成績

8例の切除不能膀胱癌患者に CTL 療法を施行し, PR 3例, NC 5例と治療効果を認めた(表2)<sup>2), 3)</sup>。また, 8例中2例が1年生存しており, 手術不能例の1年生存率が10%に満たないことを考慮すると, ある程度の延命効果はあるものと考えられる。ただし, 癌性胸腹水のある患者, あるいは切除可能の患者のみしか自己腫瘍が取れないため, 悪性度の高い膀胱癌患者には, 一部の症例しか適応にならないという欠点がある。

### 3. MUC1 抗原を標的とした細胞療法

#### 1) 膵癌と MUC1 抗原

われわれの免疫組織染色による膵癌の MUC1 発現の検討<sup>4)</sup>では、膵管癌 (55 例) 全例において発現が認められ、正常膵や良性膵疾患には発現していないことが確認された。また、MUC1 を認識する CTL は、HLA 非拘束性であることが報告されている。このことは、膵癌では全ての患者に MUC1 を認識する CTL が使用できることを意味しており、広く臨床応用可能である。

#### 2) MUC1-CTL 療法

##### ① MUC1-CTL の誘導

当科で樹立した MUC1 発現膵癌細胞株 (YPK-1) と、患者の末梢血単核球細胞 (peripheral blood mononuclear cell: PBMC) を混合培養する。3 日目より低用量の IL-2 を加え、計 8 日間培養する。この方法で誘導されたリンパ球は CTL であり、HLA 非拘束性かつ MUC1 特異的に抗腫瘍活性をもつことが実験的に確立されたため、臨床応用した。

##### ② 切除不能および再発膵癌の成績 (表 3)

インフォームド・コンセントの得られた 14 例の切除不能膵癌患者に MUC1-CTL 療法を施行した。腹膜播種および臍転移のあった症例 1 では腫瘍マーカーの上昇が抑制され、新たな転移巣の出現もなく良好な QOL のもと経過した。症例 12 は高度の局所浸潤を認めたが新病変の出現は認めず、17 カ月生存した。予後の改善は統計学的には得られなかったが、MUC1-CTL 療法により新たな肝転移の抑制を認めた。

##### ③ 切除例の成績 (表 4)

MUC1-CTL 療法により切除不能、再発症例において新たな肝転移の抑制を認めたことから、切除後の肝再発をも抑制し、予後が改善する可能性があるとして、切除例に対して本療法を導入した。本療法のタイミングとしては、術前 2 ないし 3 日前より誘導を開始し、術後 7 日以内の細胞性免疫が低下する時期に 1 回目の移入を行い、退院までに更に 2 回本療法を追加する。これまでに切除 20 例に対して本療法を施行した。その結果は、期待通りに肝

## III. 免疫化学療法の治療成績

MUC1 認識 CTL 療法を行った切除不能肺癌患者

症例	年齢	性別	腫瘍径	H	P	移入細胞数	予後
1	53	男	TS 4	0	3	$2.8 \times 10^{10}$	5M 死亡
2	49	男	TS 3	0	3	$4.0 \times 10^9$	2M 不明
3	50	男	TS 2	3	0	$1.5 \times 10^{10}$	4M 死亡
4	67	男	TS 4	0	2	$6.0 \times 10^8$	4M 死亡
5	59	男	TS 4	3	0	$1.0 \times 10^{10}$	4M 死亡
6	73	男	TS 3	3	0	$5.0 \times 10^9$	3M 死亡
7	65	男	TS 3	1	0	$6.0 \times 10^8$	8M 死亡
8	66	男	TS 2	0	3	$1.5 \times 10^{10}$	7M 死亡
9	61	女	TS 3	0	0	$1.8 \times 10^{10}$	2M 死亡
10	62	男	TS 3	0	0	$1.2 \times 10^{10}$	5M 死亡
11	66	男	TS 4	0	0	$3.6 \times 10^{10}$	8M 死亡
12	50	男	TS 3	0	0	$5.0 \times 10^8$	17M 死亡
13	50	男	TS 3	0	3	$1.8 \times 10^9$	3M 生存
14	56	男	TS 3	1	0	$1.0 \times 10^9$	3M 生存

切除例に対する MUC1-CTL 療法の成績

症例	術式	IOR	stage	施行回数	移入細胞数 $\times 10^9$	再発			予後	
						肝	局所	他		
1	66F	DP	+	IVa	3	2.7	-	+		2Y3M 死亡
2	73F	PpPD	-	IVa	4	25.0	-	+		2Y 死亡
3	66M	DP	-	III	2	15.0	-	-	肺, 骨	1Y1M 死亡
4	45F	PpPD	+	IVa	4	12.0	-	+		1Y9M 死亡
5	73M	DP	-	IVa	3	6.0	-	+	肺, 骨	1Y8M 死亡
6	69F	PD	+	IVa	2	0.7	-	+		4M 死亡
7	55M	PpPD	-	IVa	8	2.4	-	+	腹膜	1Y3M 死亡
8	72F	PpPD	+	IVb	5	2.2	-	+	リンパ節	1Y4M 死亡
9	66M	PD	+	III	5	2.7	-	-		5Y9M 生存
10	59M	PD	+	IVa	2	1.1	-	-		2Y11M 生存
11	60M	DP	+	IVb	3	0.7	-	+		1M4M 死亡
12	68M	PD	+	III	2	0.6	+	+		6M 死亡
13	67M	PD	+	III	2	1.0	-	-		3Y8M 生存
14	67F	PD	+	IVa	2	0.8	-	+	腹膜	1Y1M 死亡
15	54M	DP	+	IVb	3	1.8	-	+	腹膜	9M 死亡
16	71F	DP	-	IVa	2	0.5	-	-	骨	1M3M 死亡
17	78M	PD	-	IVb	3	3.6	-	-		9M 生存
18	72M	PaPD	-	III	6	11.0	-	-		1Y4M 生存
19	60M	DP	-	IVa	2	3.6	-	+	腹膜	1Y 死亡
20	69F	PD	-	III	3	6.6	-	-	リンパ節	11M 生存

転移を抑制しており、術後肝転移を認めたものは20例中わずか1例(5.0%)のみであり、既存の治療法にはない高い有効性が確認された。また、1年生存率は83.3%であり、全国平均やこれま

での教室における MUC1-CTL 療法を併用しなかった 1 年生存率約 60% に比べ良好な成績を得ることができた。

### 3) MUC1-DC + MUC1-CTL 療法

#### ① DC

DC は強い抗原提示能力をもつ細胞として着目され、外部からの異物に対して抗原特異的免疫応答の要として働く細胞である。癌免疫療法で DC を用いることは、より効果的で強力な腫瘍特異的免疫応答を誘導する上で有効であり、われわれも従来用いてきた MUC1-CTL 療法を発展させ、現在、MUC1-CTL 療法に MUC1-DC を併用した細胞療法を行っている。

#### ② 方法

膵癌患者の末梢血単核球から leukapheresis により付着細胞と浮遊細胞に分離し、前者は IL-4, GM-CSF, 腫瘍壊死因子 (tumor necrotizing factor  $\alpha$  : TNF  $\alpha$ ) の存在下に培養を行い成熟 DC を誘導し、これに癌抗原ペプチドである MUC1 ペプチドを成熟前にパルスし、MUC1 ペプチドを細胞表面に提示した DC (MUC1-DC) を誘導、その後皮内投与する。後者は YPK-1 と混合培養し、低用量の IL-2 の刺激を行い MUC1-CTL を誘導し、静脈内投与する(図 1)。これを 10 日ごとに繰り返し行う。

#### ③ 成績

再発、切除不能膵癌 11 例に対して、MUC1-DC と MUC1-CTL の併用療法を繰り返し施行した結果、2 例で NC, 1 例 CR であった。また、全例副作用の出現なく、外来で安全に施行できた。

#### ④ 問題点

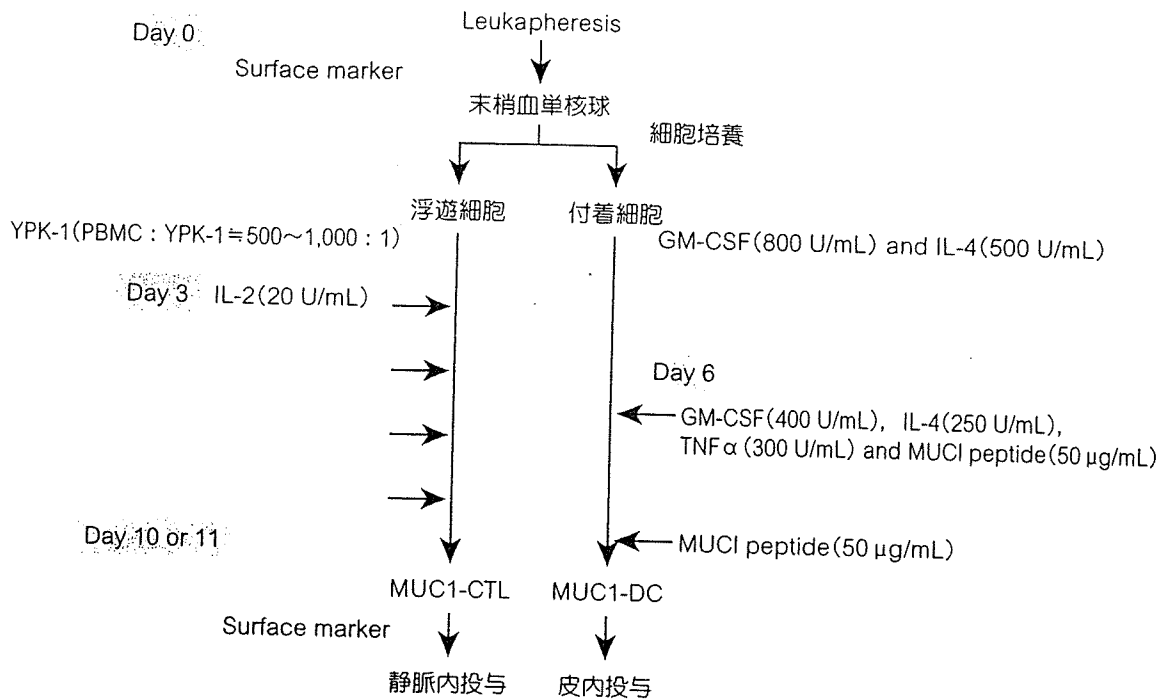
本療法は切除不能膵癌に対してある程度の臨床効果を期待できるものと思われる。しかし、担癌状態では T 細胞機能が全般的に低下しているため、その効果には限界があることを認めざるを得ない。また、手技がやや煩雑である上、多大な費用がかかる (1 回につき十数万円) ことも、問題点の 1 つと言えよう。

## 4. 癌ペプチドワクチン療法

### 1) 方法

癌ワクチン療法として、われわれは約 9 個のアミノ酸からなる





**図1** MUC1 認識 CTL + MUC1 ペプチドパルス DC 併用療法

膀胱癌患者の末梢血単核球から leukapheresis により付着細胞と浮遊細胞に分離し、前者は IL-4, GM-CSF, TNF $\alpha$  の存在下に培養を行い成熟 DC を誘導し、これに癌抗原ペプチドである MUC1 ペプチドを成熟前にパルスし、MUC1 ペプチドを細胞表面に提示した DC (MUC1-DC) を誘導、その後皮内投与する。後者は YPK-1 と混合培養し、低用量の IL-2 の刺激を行い MUC1-CTL を誘導し、静脈内投与する。これを 10 日ごとに繰り返す。

ペプチドを用いている。ペプチドは十数種類あるため、投与前にペプチドを選択する必要がある。そのため患者末梢血中にワクチン候補ペプチドに反応する CTL 前駆細胞が存在するか否かを調べ、CTL 前駆細胞の存在するペプチドを最高 4 種類まで同時に投与する。投与は 2 週間に一度、大腿部皮下に注射する。

## 2) 成績

再発・切除不能膀胱癌 10 例に本療法を施行したところ、PD9 例、NC1 例であった。NC の 1 例は、2 週間隔で 18 回以上の投与を行ったが、画像上明らかな再発病変は指摘できず、腫瘍マーカーも漸減し、長期 NC を得られている。安全性評価として、grade II 以下の局所発赤・腫脹、発熱が見られるのみで重篤な副作用は認めなかった。

## 5. 化学療法

膵癌はほとんどが腺癌であるため、腺癌に対し抗腫瘍効果を有する抗癌剤が選択される。投与経路としては全身投与（静脈内投与）が一般的であるが、高い組織内濃度を得ることによる治療効果の増強を期待して、抗癌剤を動脈内に投与することもある。

従来 5-FU が、他の薬剤と同等かそれ以上の治療効果を有し、副作用も軽度であることから膵癌に対し最も頻用されてきた。また、最近ゲムシタビンが 5-FU より優れていると報告され<sup>5)</sup>、注目されている。

多剤併用療法では 5-FU を中心に、種々の療法が試みられているが、進行膵癌に対する標準的な併用療法は確立していない。

## おわりに

膵癌に対して、化学療法をはじめ従来の治療法には限界があることは明らかであり、新たな治療法の開発が待たれている。われわれが行ってきた免疫療法は副作用なく施行でき、切除例における肝転移抑制など効果を認めている。免疫療法は膵癌に対する新たな治療法のひとつになると期待される。

（長島由紀子，山本光太郎，矢原 昇，河岡 徹，岡 正朗）

- 1) 日本膵臓学会膵癌登録委員会：膵癌全国登録調査報告（1998 年度症例）
- 2) Oka M, et al : Adoptive immunotherapy for unresectable or recurrent pancreatic cancer, using lymphokine-activated killer cells or cytotoxic T cells. J Hep Bil Pancr Surg 2 : 163-167, 1994
- 3) 鈴木道成ほか：膵癌に対する養子免疫療法. 胆と膵 16 : 509-516, 1995
- 4) Masaki Y, et al : Sialylated MUC1 expression in normal pancreas, benign pancreatic lesions, and pancreatic ductal adenocarcinoma. Hapatogastroenterology 46 : 2240-2245, 1999
- 5) Burris III HA, et al : Improvements in survival and clinical benefit with gemcitabine as first-line therapy for patients with advanced pancreas cancer. A randomized trial. J Clin Oncol 15 : 2403-2413, 1997

# 1. 癌ワクチン療法

## はじめに

ヒト癌免疫療法は、1990年代以降科学的根拠に裏付けられた新時代に入った。免疫学と細胞生物学、分子生物学の進歩が種々の悪性腫瘍に発現する腫瘍抗原の分子レベルでの解明、すなわち腫瘍拒絶抗原ペプチドの同定を可能とし、他方では、強力な抗原提示細胞 (antigen presenting cell : APC) である樹状細胞 (dendritic cell : DC) の特性解析が進み、その *in vitro* 培養法が確立されたからである。これらの進歩を背景に癌免疫療法の新戦略であるワクチン療法の臨床応用が開始された。

本項では癌ワクチン療法の理論と実際、現況について概説し、今後の方向性を展望する。

## 1. 癌免疫療法の分類

癌免疫療法は能動免疫療法と受動免疫療法の2つに大別することが可能である。そしてその各々において、癌抗原を標的とした特異的免疫療法と、生体の免疫能全般を賦活することにより癌の退縮を期待する非特異的免疫療法が存在する。

また、リンパ球、単球等の免疫細胞を一旦体外に取り出した後に培養、増殖させ、抗腫瘍性効果細胞に変換した後に再び生体に投与する治療法は、細胞免疫療法と総称される。この治療法は受動免疫療法においては従来からその主体をなしてきたが、強力な抗原提示細胞である DC の培養技術の進歩により、近年では能動免疫療法(ワクチン療法)における著しい進歩がもたらされている。

その他、IFN や IL-2 等のサイトカイン製剤を用いたサイトカイン療法や、免疫賦活剤 (biological response modifier (BRM) 製剤) を用いた BRM 療法が存在する。BRM 製剤の中でもピシバニール® (OK-432) や BCG などの菌体由来製剤は強力なサイトカイン誘導能を有し、その投与は生体の免疫能を非特異的に賦活する。感染とは直接関係はないが、ある意味感染免疫を応用した非特異的ワ

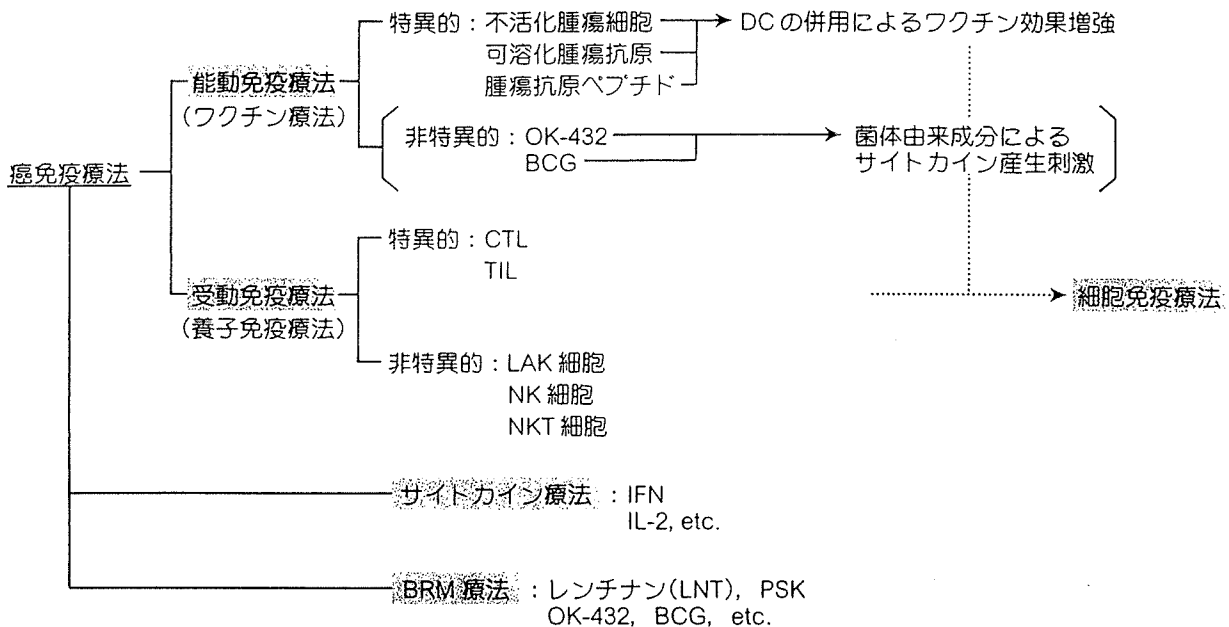


図1 癌免疫療法の分類

癌免疫療法は、能動免疫療法と受動免疫療法の2つに大別され、また、サイトカイン療法やBRM療法が存在する。

ワクチンとして、癌治療における位置づけが可能であろう(図1)。

## 2. 癌ワクチン療法の理論と実際

癌ワクチン療法とは、癌に対する特異的能動免疫療法の別名である。ワクチン療法は元来、生体の免疫反応を利用して感染症の予防を行うことを主目的に発展してきた治療法であるが、その手法が癌治療にも応用されるようになった。すなわち、患者の癌に由来する何らかの抗原を接種することにより、癌に対する特異的T細胞免疫応答を惹起し、癌の再発予防や退縮を期待するものである(図2)。

癌抗原の科学的本体が不明であった90年代以前には、不活化した腫瘍細胞自体を用いたワクチン療法の臨床試験が、悪性黒色腫(メラノーマ)や腎癌、大腸癌に対して試みられたが、十分な効果は得られなかった<sup>1)</sup>。それが90年代以降のメラノーマ抗原を中心とした数多くのCD8<sup>+</sup>T細胞認識腫瘍抗原の分子レベルでの解明と、DCに関する研究の進展を契機として、急激な進歩を遂げてきている。

T細胞受容体は癌細胞表面上の癌抗原・主要組織適合遺伝子複