

図8 免疫療法(IL-2 持続投与)前後の免疫指標

免疫が低下する(図7)。この免疫抑制は手術侵襲に比例して起こるため、可能な限り手術侵襲を小さくする必要がある。近年腹腔鏡下手術が導入され、美容上、入院期間短縮、疼痛軽減などの利点のほかに、手術侵襲軽減による癌転移予防効果も確認されている⁷⁾。腹腔鏡下手術ではIL-4, IL-10の産生昂進は認めず、IFN- γ , IL-2産生の低下も認めないとの報告もある⁸⁾⁹⁾。多くの文献の考察によると、腹腔鏡下手術は開腹手術とは異なり、免疫抑制ではなく逆に軽い免疫活性化状態を引き起こすとされており、根治性を損なわない限り選択すべき術式である⁸⁾。

術中の出血に対する輸血も免疫能を低下させ癌再発を助長する。同種血輸血を受けた大腸癌患者ではIL-10, sIL-2R, TNFRが術後有意に上昇し、破傷風トキソイドに対する反応性(液性免疫能を示す)も上昇する。逆に自己血輸血患者では皮膚の遅延性過敏反応(細胞性免疫を示す)が無輸血患者よりも高値を示す。これらの結果より、同種輸血はTh2優位の液性免疫を、逆に自己血輸血はTh1優位の細胞性免疫を誘導すると推定される。したがって可及的に輸血を避け、可能なら自己血輸血を準備することが望ましい⁹⁾。また、術前に貧血を認める患者において術前補正群と術中補正群を比較すると術前補正群で免疫能の低下が少な

く遠隔成績も良好であるため、術前に貧血の補正を行う必要がある。

また、周術期の免疫療法も多く試みられている。NK細胞、Tリンパ球の活性化因子であるIL-2周術期投与により、NK活性およびLAK活性の上昇、リンパ球の活性化と増加、さらにCD25(interleukin 2 receptor)およびCD45RO(T-memory cells)陽性細胞の増加が認められている(図8)。さらにDukes分類Dの進行大腸癌患者に対して、術前IL-2投与・非投与のランダム化試験が行われ、投与群では非投与群に比較して、腫瘍浸潤リンパ球の増加、さらに有意な予後の延長が報告されている¹⁰⁾。消化器癌の再発部位としては、肝転移が多くを占める。そこで手術侵襲後の肝局所免疫能を検討するためラット肝転移モデルを使用して単開腹・小腸切除を負荷し、48時間後の末梢血および肝非実質細胞のNK活性を測定したところ、小腸切除群では肝非実質細胞のNK活性が著明に低下していた。また肝転移巣の増殖は小腸切除群で著明に促進された¹¹⁾。次に術後にIL-2を門脈内投与したところ、肝非実質細胞のNK活性と抗移植腫瘍活性は著明に増強され、転移巣出現率および転移巣の増殖率も有意に抑制された¹²⁾。これらの結果は肝転移予防には周術期の門脈内IL-2投与が有効であることを示し

ている。他のサイトカインでは IFN- γ の周術期投与が行われ発熱以外の毒性は認めず、術後の NK 活性の低下が予防されたとの報告もある¹³⁾。

PGE2 は強力な免疫抑制物質であり、炎症や腫瘍局所のマクロファージから産生される。大腸癌患者の門脈血の PGE2 レベルは動脈血と比較して有意に高く、しかも進行癌患者で有意に高値を示した。さらに門脈血 PGE2 レベルが 100 pg/ml 以上であった 9 症例中 4 症例が 2 年以内に肝転移再発をきたした⁴⁾。このように PGE2 は腫瘍増殖と再発にきわめて強い関連性を示す。したがって術後の炎症巣からの PGE2 産生を抑制することは重要である。実際、術後にモルヒネ、プロスタグランジン(PG)E2 抑制剤(インドメサシン)、IL-2 の 3 者をさまざまな組み合わせで投与し、術後の NK 活性と腫瘍増殖を観察したところ、少量の IL-2 と PGE2 抑制剤の組み合わせが手術

による免疫抑制の解除に最も優れており、腫瘍の発育を著明に抑制した。逆にモルヒネは NK 活性をさらに低下させ、腫瘍の発育を著明に促進した。この結果から術後の疼痛管理には PGE2 抑制剤(インドメサシン)が優れており、モルヒネは極力使用を避けるべきと言える¹⁴⁾。

また、侵襲ストレスによる上部消化管出血の予防として H2-blocker であるシメチジンやラニチジンが投与されているが、これらの周術期投与により細胞性免疫の低下が防止できると報告されている¹⁵⁾。

周術期の経腸栄養は、経口摂取が十分に行えない症例の栄養状態ならびに免疫能の改善に有効であり、さらに術後早期からの経腸栄養も免疫能回復に有効であると報告されており、食道癌などの術後に応用されている¹⁶⁾。

文 献

- 1) Tabata T, Hazama S, Yoshino S, et al: Th2 subset dominance among peripheral blood T lymphocytes in patients with digestive cancers. *Am J Surg* 177: 203-208, 1999.
- 2) Oka M, Yamamoto K, Takahashi M, et al: Relationship between serum levels of interleukin-6, various disease parameters, and nutrition in patients with esophageal squamous carcinoma. *Cancer Res* 56: 2776-2780, 1996.
- 3) Oka M, Hirose K, Iizuka N, et al: Cytokine mRNA expression patterns in human esophageal cancer cell lines. *J. Interfer. Cytokine Res* 15: 1005-1009, 1995.
- 4) Oka M, Inaba A, Uchiyama T, et al: Prostaglandin E2 Levels and Lymphocyte Subsets in Portal Venous Drainage of Colorectal Cancers. *Am J Surg* 167: 264-267, 1994.
- 5) 吉野茂文, 裕 彰一, 田畑智之ほか: 腫瘍による Th2 細胞の誘導. *臨床免疫* 31: 139-144, 1999.
- 6) Oka M, Hirazawa K, Yamamoto K, et al: Induction of Fas-Mediated Apoptosis on Circulating Lymphocytes by Surgical Stress. *Ann Surg* 223: 434-440, 1996.
- 7) Allendorf JD, Bessler M, Horvath KD, et al: Increased tumor establishment and growth after open vs laparoscopic bowel resection in mice. *Surg Endosc* 12: 1035-1038, 1998.
- 8) Vittimberga FJ Jr, Foley DP, Meyers WC, et al: Laparoscopic surgery and the systemic immune response. *Ann Surg* 227: 326-334, 1998.
- 9) Heiss MM, Fraunberger P, Delanoff C, et al: Modulation of immune response by blood transfusion: evidence for a differential effect of allogeneic and autologous blood in colorectal cancer surgery. *Shock* 8: 402-408, 1997.
- 10) Barni S, Lavorato F, Fumagalli L: Preoperative interleukin-2 subcutaneous immunotherapy may prolong the survival time in advanced colorectal cancer patients. *Oncology* 53: 263-268, 1996.
- 11) Oka M, Hazama S, Suzuki M, et al: Depression of cytotoxicity of nonparenchymal cells in the liver after surgery. *Surgery* 116: 877-882, 1994.
- 12) 裕 彰一: 門脈内 IL-2 持続投与による肝転移増殖の抑制と肝臓内単核球の細胞傷害活性の増強. *山口医学* 39: 401-411, 1990.
- 13) Houvenaeghel G, Bladou F, Blache JL, et al: Tolerance and feasibility of perioperative treatment with interferon-alpha 2a in advanced cancers. *Int Surg* 82: 165-169, 1997.
- 14) Colacchio TA, Yeager MP, Hildebrandt LW: Perioperative immunomodulation in cancer surgery. *Am J Surg* 167: 174-179, 1994.
- 15) Altomare DF, Lupo L, Pannarale OC, et al: Reduction of postoperative immunosuppression with ranitidine in patients with cancer of the stomach or large bowel. *Eur J Surg* 161: 109-113, 1995.
- 16) Braga M, Vignali A, Gianotti L, et al: Immune and nutritional effects of early enteral nutrition after major abdominal operations. *Eur J Surg* 162: 105-112, 1996.

特集

● 癌に対する細胞療法の新しい展開 ●

選択的培養法による NK 細胞療法の新展開

*¹ 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, *² ジェー・ビー・セラピューティクス株式会社・癌免疫療法研究所有賀 淳*¹ 小林 泰信*² 松下 典正*¹
須藤 俊美*¹ 谷川 啓司*²

要旨 近年、腫瘍抗原特異的癌免疫療法の研究が広く進められているが、癌細胞の MHC 分子や腫瘍抗原の発現は均一、単一ではなく、特定の腫瘍抗原を標的とした治療では腫瘍の多様性に十分対応できない。われわれは同一末梢血より樹状細胞、T 細胞、NK 細胞をそれぞれのプラスチック付着能の差を利用して分離培養する方法を開発し、3種類の免疫細胞を併用する複合癌免疫療法を試みている。健常人および半数以上の癌患者において、3種類の免疫細胞の分離培養が可能であり、特に選択的に活性化増殖させた NK 細胞 (A-LAK) は高い細胞傷害活性と Type 1 サイトカイン産生能を示した。選択的活性化増殖した A-LAK はまた、Herceptin などの抗体医薬との併用にて細胞傷害活性の著明な増強が認められ、抗体療法と NK 細胞療法の併用による臨床効果の増強も期待できる。以上のように、腫瘍抗原特異的な樹状細胞療法、T 細胞療法に加えて、同時に NK 細胞を選択的に活性化増殖させた A-LAK を用いる複合癌免疫療法が可能であり、非特異的抗腫瘍効果および抗体医薬併用による癌抗原特異的抗腫瘍効果が期待される。

[Biotherapy 19 (4) : 317-324, July, 2005]

Development of NK Cell-Based Immunotherapy for Cancer

Atsushi Aruga*¹, Yasunobu Kobayashi*², Norimasa Matsushita*¹, Toshimi Sudo*¹ and Keishi Tanigawa*²*¹CICT, Graduate School of Medicine, Tokyo Women's Medical University and*²J.B. Therapeutics, Inc. Cancer Immunotherapy Research Center

Summary

Recently, cancer immunotherapy utilizing DC pulsed with tumor antigens to stimulate tumor-specific T cells has been performed. While these studies have been promising, this approach may not be effective against antigen or MHC negative tumor cells. Because many tumors downregulate MHC molecules and vary in expression of tumor-associated antigens, the use of tumor-specific T cells is limited. In order to develop potential treatments regardless of HLA or tumor antigen expression, we have developed a method to separate dendritic cells, T cells, and NK cells from a single peripheral blood mononuclear cell sample based on their ability to adhere to plastic. We plan to perform combination cell therapy with these three populations of immune cells. Our intention is to develop vaccines for the induction of tumor-specific T cell responses and tumor non-specific NK cell responses. In this study, we examined the efficacy of selectively activated and proliferating NK cells (A-LAK). We found that A-LAK demonstrated high cytotoxic activity and secretion of type 1 cytokines against tumor cell lines. Moreover, an increase in cytotoxicity was seen when tumor cells were first opsonized with the monoclonal antibody, Herceptin, and co-cultured with A-LAK cells, suggesting potential advantages of combination therapy with A-LAK and antibody. As previously mentioned, immunotherapy which combines A-LAK cells, tumor antigen-specific dendritic cells, and T cells may be beneficial to target a broad spectrum of tumor cells, regardless of antigen or MHC expression. In particular, A-LAK is expected to show both non-specific anti-tumor effects and specific anti-tumor

effects when combined with monoclonal antibody therapies.

Key words : NK, Immunotherapy, A-LAK, Dendritic cell, T cell

Address request for reprints to : Dr. Atsushi Aruga, CICT, Graduate School of Medicine, Tokyo Women's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

はじめに

近年、腫瘍抗原の同定および人工抗原の合成が可能となり、樹状細胞などを利用した腫瘍抗原特異的免疫療法が精力的に研究されている。しかし、ヒト腫瘍では病巣部位における腫瘍抗原の発現は単一ではなく、また多くの場合で均一ではない。さらに、癌細胞自体に MHC 抗原の欠損するケースもしばしば認められる。このような複雑な病態に対して、単一の腫瘍抗原を標的とした特異的癌免疫療法では十分対応することが困難と考えられ、最近 natural killer (NK) 細胞, natural killer T (NKT) 細胞, $\gamma\delta$ 型 T 細胞などの非特異的細胞傷害活性を有する免疫細胞の利用が注目されている。このうちの NK 細胞は比較的古くより研究されてきたが、近年 NK 細胞における活性化レセプターと抑制レセプターが発見され、また樹状細胞とのクロストークについても注目を集めている。この古くて新しい NK 細胞を利用した癌の免疫療法について、われわれの最新の試みを織り込みながらまとめてみたい。

I. 健常人と癌患者における末梢血中 NK 細胞の差異

健常人と癌患者それぞれ 30 人の末梢血リンパ球中の NK 細胞の比率を測定したところ、癌患者において健常人より有意に NK 細胞比率が低下していることが確認された (図 1a)。K562 を標的とした NK 活性測定においても、癌患者の NK 細胞は K562 に対する細胞傷害活性が健常人より有意に低値であった (図 1b)。NK 細胞実数も低下していたが、NK 細胞 1 個当たりの NK 活性を比較しても、癌患者では健常人より有意に低値を示し、癌患者において NK 細胞を中心とした自然免疫系機能が低下していることが推測される。もともと、NK 細胞の数や比率および細胞傷害活性には個人差があることが知られており、NK 細胞

比率、総数や NK 活性が低い人では癌の発症率が高いとする研究報告もあるなど、癌患者における NK 細胞機能低下が担癌状態の結果のみならず発癌の原因としても深くかかわっていることが推測されている。NK 細胞を利用した癌免疫療法を検討する場合、癌患者における NK 細胞機能が健常人より低下していることを念頭におかなければならない。

II. NK 細胞表面上の活性化シグナルの解析

NK 細胞に関する最近の話題として、NK 細胞の活性・抑制を制御する分子が同定されたことがあげられる。抑制シグナルとなる分子として CD94/NKG2A, KIR2DL2/3, KIR2DL1, ILT2 などが、活性シグナルとなる分子として NKG2D, NKp30, NKp44, NKp46 などが知られている。このうちの活性化レセプターは C 型レクチン様受容体ファミリー (NKG2D) とイムノグロブリンスーパーファミリー (NKp30, NKp44, NKp46) に分類され、NKG2D は細胞内で DAP10 と会合し、また NKp30, NKp44, NKp46 は immune-receptor tyrosine-based activation motifs (ITAM) を有する分子と会合して活性化シグナルを伝達する。これらの分子はいずれも標的細胞の認識および細胞傷害活性に直接関与することがわかっており、NKG2D のリガンドとして MICA/B などが腫瘍細胞に広範囲に発現していることが確認されている。NKp30 は腫瘍細胞や樹状細胞にそのリガンドが発現することが知られており、NKp44 と NKp46 はウイルス感染細胞に対する細胞傷害活性と関係していると考えられている。われわれは、健常人と癌患者の NK 細胞における NKp30, NKp44, NKp46, NKG2D の発現をフローサイトメーターにて解析した結果、NKp30, NKp46, NKG2D の発現が癌患者の NK 細胞で有意に低下していることが確認された (図 2)。この結果は、癌患者において NK

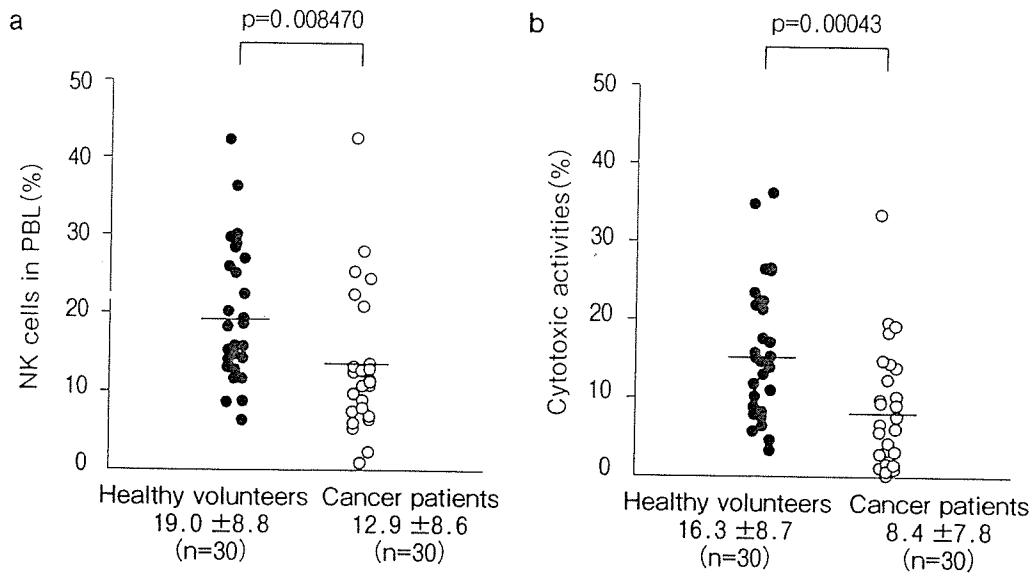
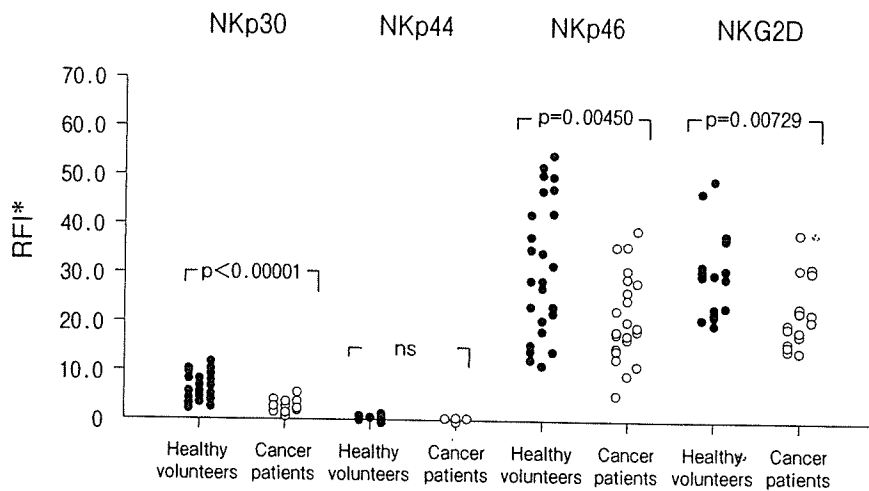


図1 健康人および癌患者の末梢血リンパ球中NK細胞の比率とK562に対する細胞傷害活性の比較
a: PBL中のNK細胞比率, b: K562に対する細胞傷害活性



*: RFI(relative fluorescence intensity) =
$$\frac{\text{MFI of mAb-treated cells} - \text{MFI of isotype control mAb-treated cells}}{\text{MFI of isotype control mAb-treated cells}}$$

図2 健康人および癌患者末梢血中NK細胞の活性化レセプター (NCRs, NKG2D) 発現の比較

細胞活性化レセプターの発現が低下しており、個々のNK細胞の活性低下に影響していることを示唆している。

Ⅲ. NK細胞の活性化増殖培養と癌免疫療法への応用

末梢血リンパ球を高濃度のインターロイキン(IL)-2にて培養することにより、T細胞, NK

細胞を活性化増殖させることが可能であり、lymphokine activated killer (LAK) 細胞として1980年代より米国のNCIを中心に臨床研究が実施された。高濃度のIL-2添加培養にて誘導されるLAK細胞は多くの細胞からなるポリクローナルな細胞集団であるが、腫瘍細胞傷害活性はLAK細胞中のCD3⁻CD56⁺NK細胞が主体と考えられている¹⁾。前述のように、健康人に比較し

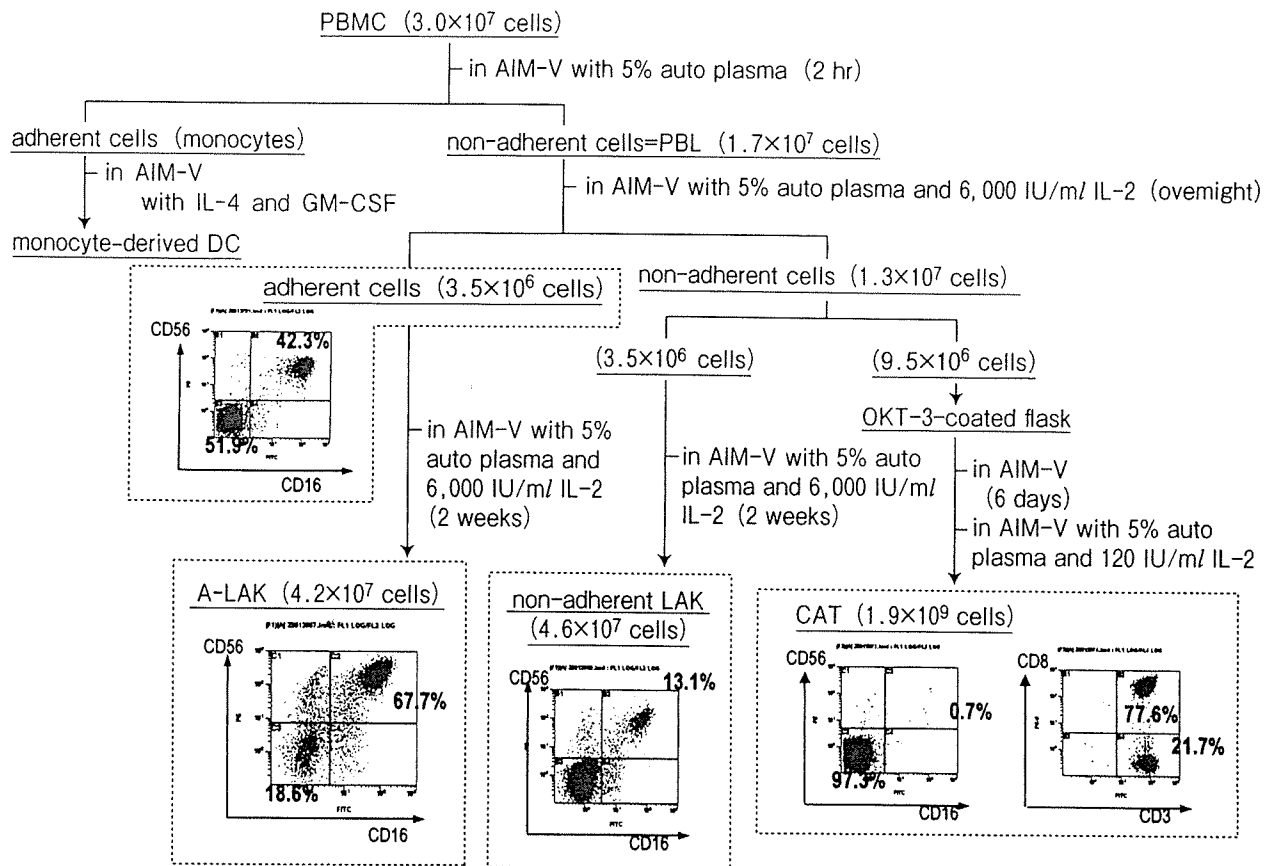


図3 フラスコ付着性を利用したNK細胞, T細胞, 樹状細胞の分離・培養法

て癌患者ではNK細胞, NK活性のいずれも減少していたが, これらをIL-2にて活性化培養したLAK細胞においても, 同様に健常人と比較して腫瘍細胞傷害活性が低下していることが確認されている。われわれはNK細胞を選択的に活性化増殖させる培養法につき検討したところ, IL-2に加えてTNF- α + IL-1 β もしくはOK-432の添加培養や, ある種の腫瘍細胞(K562など)との混合培養が有効と考えられた²⁾。癌患者においても, OK-432の併用培養法によりNK細胞の活性化増殖が增強されることも確認されている³⁾。NK細胞を階層的に増殖させるシグナルは未だ見つかっていないが, われわれは最近, グリコサミノグリカンがNK細胞を選択的に活性化増殖させることを発見し, 現在その詳細を解明中である。しかし, それらの培養法ではNK細胞を選択的に活性化増殖させることは可能であっても, NK細胞のみを癌免疫療法の効果細胞とした場合, 自己のHLA-Cなどからの抑制や腫瘍局在集積性の少な

さより, ヒトの癌病態に十分対応することが困難と考えられる。そのため, われわれは末梢血単核細胞からのNK細胞, T細胞, 樹状細胞の同時分離培養法の開発を試みており, この方法のなかで, 特にNK細胞の選択的活性化増殖培養に関する知見を次項で紹介する。

IV. フラスコ付着能の差を利用したNK細胞の選択的活性化増殖培養法の開発

現在の癌免疫療法は, 腫瘍抗原に特異的な免疫応答を利用する方法が中心となっている。その場合の効果細胞は, 強力な抗原提示細胞である樹状細胞と $\alpha\beta$ 型T細胞である⁴⁾。しかし, 単一の腫瘍抗原を標的とした特異的癌免疫療法では, 発現抗原の異なる癌細胞やMHCを欠損した癌細胞に対応できない。その欠点を補うために, 複数の腫瘍抗原を標的としたり, NK細胞, NKT細胞, $\gamma\delta$ 型T細胞などの非特異的免疫細胞を利用する方法が注目されている。われわれは, 肝癌に対

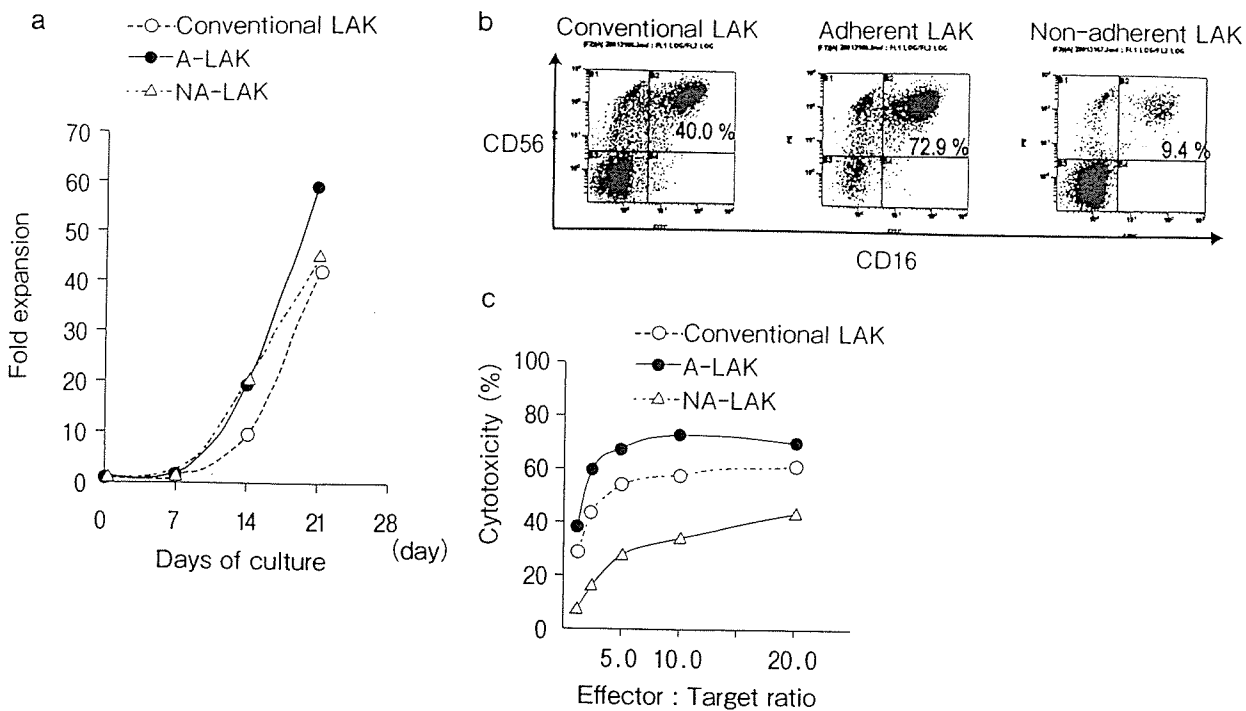


図4 A-LAKの細胞増殖率と細胞傷害活性の比較

a: 培養細胞増加率, b: 培養細胞のサブセット (21日目), c: K562に対する細胞傷害活性

して自己腫瘍抽出抗原を利用した樹状細胞ワクチンと活性化自己リンパ球の併用治療の臨床試験を実施しており、免疫細胞のフラスコ付着能の差を利用して、樹状細胞とT細胞を分離培養してきた。今回さらに、NK細胞を分離培養する方法を加えて、同一のPBMCより樹状細胞、T細胞、NK細胞を同時に分離培養して利用する方法を開発した⁵⁾。まず、健常人末梢血より単核細胞層を採取し、フラスコにて2時間静置することにより、最初に単球成分をフラスコに付着させる。このフラスコ付着単球はその後GM-CSFとIL-4を添加培養して樹状細胞を誘導し、樹状細胞ワクチンなどに利用する。回収したフラスコ非付着細胞に6,000 IU/mlのIL-2を添加してovernight静置し、さらに付着細胞と非付着細胞に分離する。この時のフラスコ非付着細胞はT細胞優位分画であり、固相化抗CD3抗体(OKT-3)刺激を加えた後にIL-2にて培養してCD3-activated T (CAT)細胞の誘導などに利用する。フラスコ付着細胞を2~3週間、6,000 IU/mlのIL-2添加培養すると、CD3⁻CD16⁺CD56⁺NK細胞が選択的に活性化増殖する。以上の方法で、同一

PBMCより、T細胞、NK細胞、樹状細胞が分離培養可能となった(図3)。この方法で分離培養したNK細胞(以下、adherent LAK, A-LAK)は通常のIL-2添加培養によるLAK細胞より細胞増加率が高率であり(図4a)、CD16⁺CD56⁺NK細胞含有率が多く(図4b)、K562に対する細胞傷害活性も高値であった(図4c)。次に、同様の培養法を癌患者において試みたところ、健常人ではすべてでA-LAK中にCD3⁻CD56⁺NK細胞の選択的増殖が認められたが、癌患者では14人中8人では同様にNK細胞の選択的増殖が認められたものの、14人中5人でNK細胞分画が増殖せず、CD3⁺CD56⁺T細胞が優位に増殖してくる症例が観察された(図5)。A-LAK中にCD3⁻CD56⁺NK細胞が増殖するI型に比較して、CD3⁺CD56⁺T細胞が増殖するII型では腫瘍細胞による再刺激時のType 1サイトカインであるIFN- γ およびTNF- α の産生が認められず(図6a)、K562に対する細胞傷害活性も低値であった(図6b)。II型の症例では細胞培養時にOK-432を併用してもNK細胞の増殖が誘導できなかった(図7)。これに対して健常人と同じ

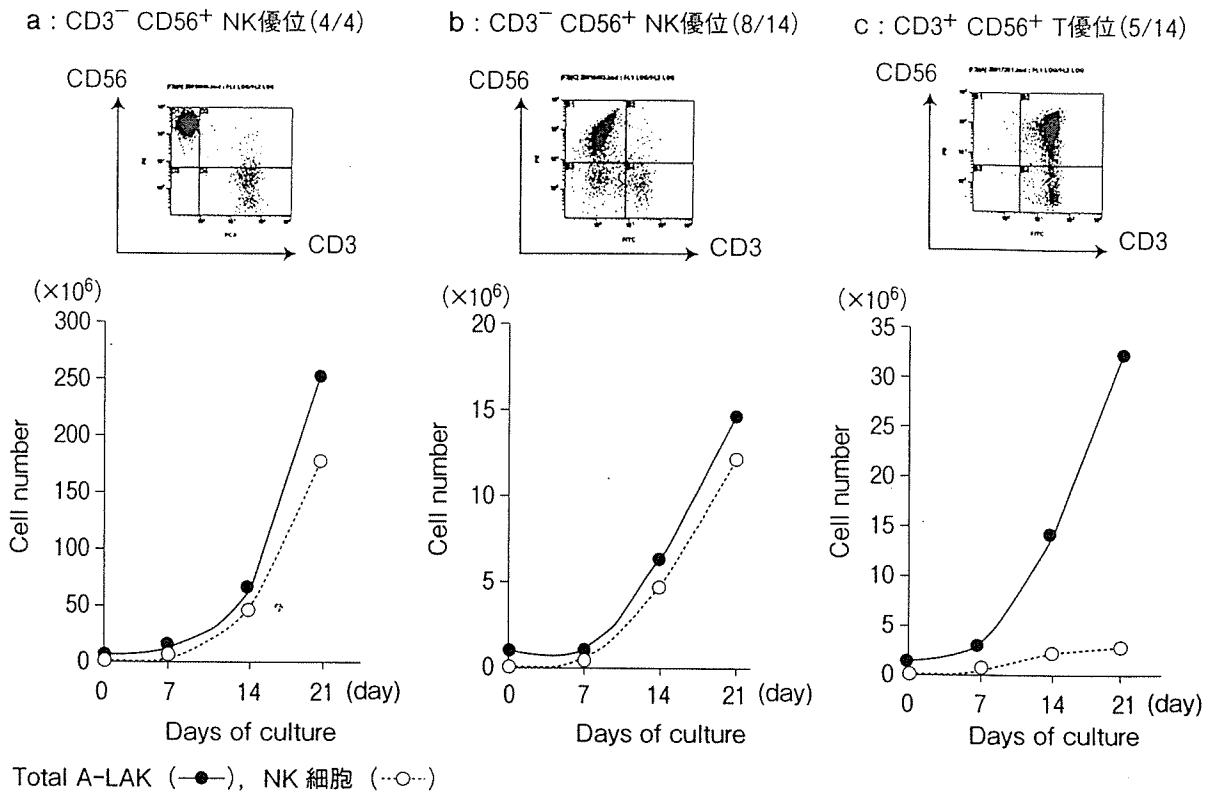


図5 健康人および癌患者 A-LAK 中のNK 細胞数の増加パターン分類
a : 健康人, b : 癌患者-I 型, c : 癌患者-II 型

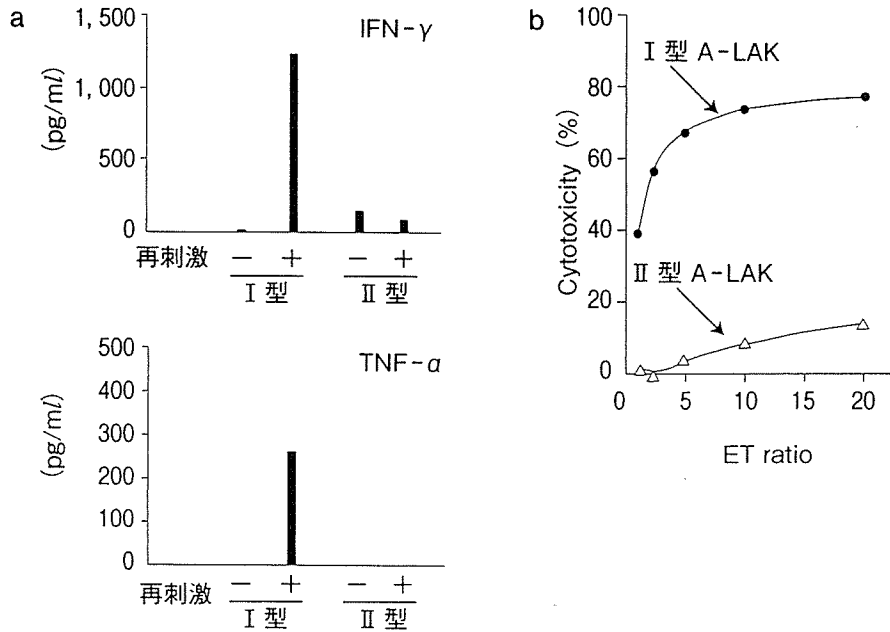


図6 I, II 型における Type 1 サイトカイン産生能および細胞傷害活性の比較
a : Type 1 サイトカイン産生。2 $\times 10^5$ 個の A-LAK 細胞を 2 $\times 10^4$ 個の癌細胞にて再刺激した際の混合培養 24 時間後の培養上清中の IFN- γ および TNF- α 量を BD Human Th1/Th2 Cytokine Cytometric Bead Array にて測定。
b : K562 に対する細胞傷害活性を測定。

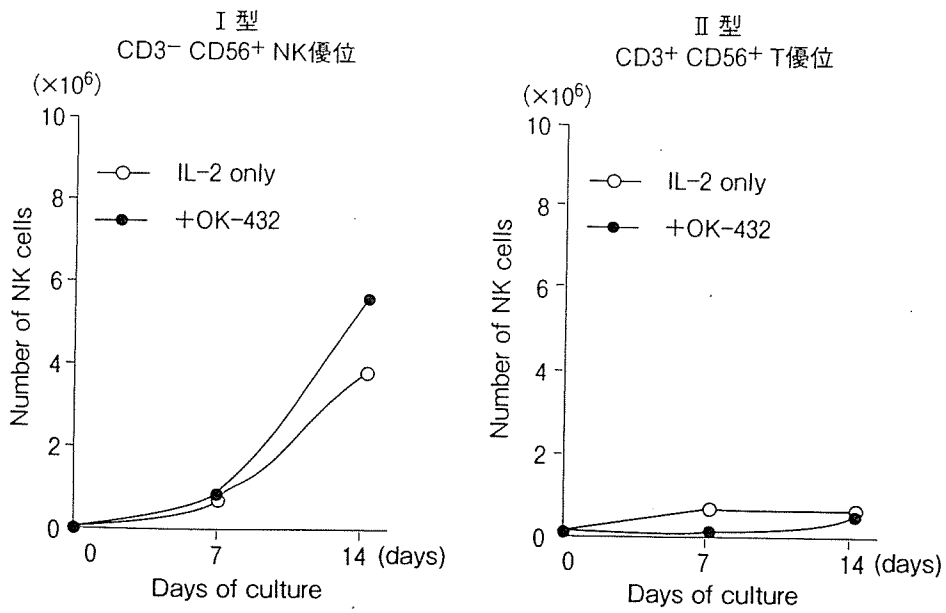


図7 細胞培養における OK-432 併用による NK 細胞増殖効果

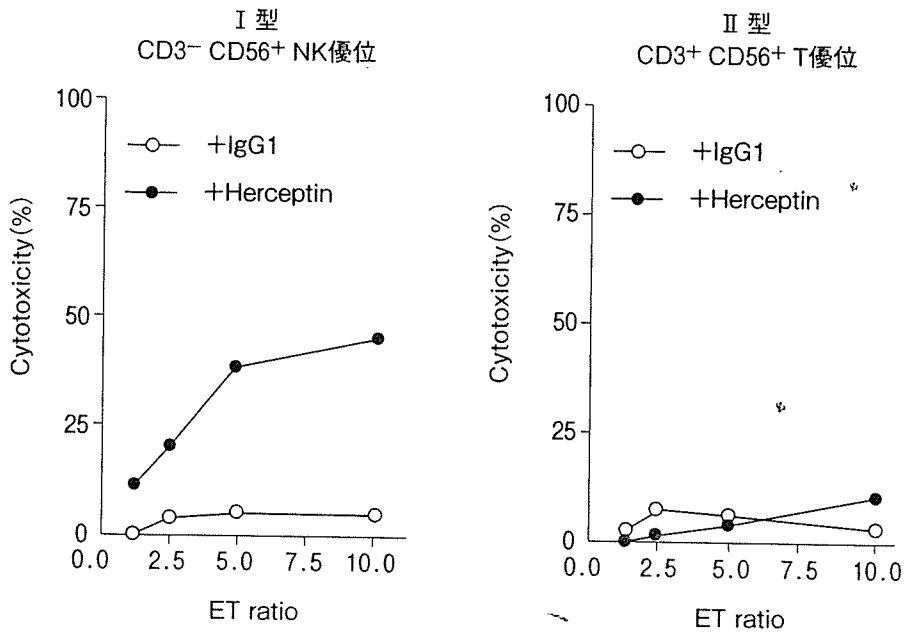


図8 抗 HER2 抗体併用による細胞傷害活性増強効果

CD3⁻ CD56⁺ NK 細胞が増殖する I 型では、OK-432 の併用によりさらに NK 細胞増殖が増強された。II 型の症例ではもともと末梢血中の CD3⁻ CD56⁺ NK 細胞比率が 5% 以下であり、極度に NK 細胞の少ない患者ではこの方法を用いても NK 細胞の選択的活性化増殖は困難と考えられ、NK 細胞療法自体の実施が困難な症例が存在する

ことが認められた。

V. 抗体併用 NK 細胞療法の開発

近年、ヒト化抗体の医療への応用が目覚ましく、すでに保険適応の標準治療薬となっている“Herceptin”は乳癌に高発現する HER2 分子を標的としたヒト化モノクローナル抗体であり、標

的分子のHER2と結合する側の対側にFcレセプターを有しているため生体内でNK細胞のCD16分子と結合してADCCを誘導する。ところが、NK細胞の減少している癌患者ではHerceptinの臨床効果が低下することが報告されており、抗体療法における生体内のNK細胞の動態が重要視されている。われわれは、健常人においてHerceptin併用によるLAK細胞の腫瘍細胞傷害活性の増強を確認し、さらにOK-432併用培養によりNK細胞を選択的に増殖させることにより、このHerceptin併用による細胞傷害活性増強効果がさらに高まることを報告した²⁾。癌患者ではNK細胞の数および機能が低下しているが、OK-432併用培養により、Herceptin併用効果の増強が確認されている³⁾。しかし、前述のA-LAK法にてCD3⁺CD56⁺T細胞が優位に増殖する、NK細胞の極度に低下したII型症例ではHerceptin併用による細胞傷害活性の増強効果も認められなかった(図8)。

この抗体併用NK細胞療法は、利用する抗体を変えることにより多くの腫瘍に応用が可能と考えられ、実際、肺癌や大腸癌などに高度に発現するEGFRに対する抗体医薬であるErbixを用いることにより、EGFR⁺腫瘍に対するNK細胞の細胞傷害活性増強が確認されている⁶⁾。今後、多くの抗体療法が臨床に取り入れられていくことが考えられるが、癌患者におけるNK細胞の減少は抗体療法それ自体の効果を低減する重要な因子となる。抗体療法と同時にNK細胞療法を併用することが、臨床効果増強の目的で普及していくことが期待される。

おわりに

NK細胞は古くて新しい免疫細胞である。近年のレセプター解析や樹状細胞との関係など学問的にも興味深い。今回、単核細胞層からの樹状細胞、T細胞、NK細胞の同時分離培養が可能となったことより、複数の免疫細胞を同時に利用した複合癌免疫療法の新規開発が期待され、癌細胞のMHC抗原や腫瘍抗原の発現の多様性に対応することが可能となることが期待される。NK細胞はこれからの癌免疫療法における重要な効果細胞であることを改めて認識させられ、今後は末梢採血からNK細胞を階層的に増殖させられる簡易な選択的活性化増殖培養法の開発が待たれるところである。

文 献

- 1) 須藤俊美, 小林泰信, 有賀 淳・他: 非特異的免疫細胞治療における効果細胞の解析. 癌と化学療法 30(11):1817-1820, 2003.
- 2) 小林泰信, 須藤俊美, 有賀 淳・他: NK-Enriched LAK細胞の培養とその有用性. 癌と化学療法 30(11):1776-1779, 2003.
- 3) Sudo, T., Aruga, A., Matsushita, N., et al.: OK432-activated natural killer cells enhanced trastuzumab-mediated antigen-dependent cellular cytotoxicity in patients with advanced cancer. *Anticancer Res.* (submitted)
- 4) 有賀 淳, 清水公一, 高崎 健: 消化器癌における免疫療法. 東京女医大誌 74(6/7):1-9, 2004.
- 5) 松下典正, 小林泰信, 有賀 淳・他: 腫瘍細胞の多様性に対応した複合癌免疫細胞療法の新規開発. 癌と化学療法 31(11):1655-1658, 2004.
- 6) 小峰啓史, 田中宜之, 有賀 淳・他: 肺癌に対する抗EGFR抗体併用細胞療法の基礎的検討. 癌と化学療法 32(11), 2005. (in press)

特別企画

● モノクローナル抗体の現状と展望 ●

悪性腫瘍に対する抗体併用細胞療法の基礎的検討

東京女子医科大学大学院医学研究科・外科系専攻

須藤 俊美 有賀 淳

要旨 われわれは、悪性腫瘍に対する免疫療法として患者自己免疫細胞を利用した細胞療法の開発を研究している。今回、非特異的細胞傷害活性を有する活性化免疫細胞投与と悪性腫瘍の標的分子に対する特異的モノクローナル抗体である Herceptin の併用による腫瘍特異的細胞傷害活性増強効果を検討し、抗体医薬併用細胞療法の可能性を検討した。健康人の末梢血単核細胞より IL-2 添加培養にて誘導した LAK 細胞の細胞傷害活性は Herceptin の併用により HER2 強陽性腫瘍および HER2 弱陽性腫瘍に対して増強効果が認められたが、HER2 陰性腫瘍では認められなかった。LAK 細胞中の細胞傷害性効果細胞の主体である CD3 陰性 CD56 陽性 NK 細胞の選択的活性化増殖培養において OK-432 の添加が有効であり、OK-432 添加培養で CD3 陰性 CD56 陽性 NK 細胞を選択的に活性化増殖させた場合に、Herceptin 併用による著明な細胞傷害活性の増強および Type 1 サイトカイン産生の増強が認められた。以上より、Herceptin を併用した細胞療法の可能性が示され、効果細胞である NK 細胞の選択的活性化増殖培養に OK-432 の利用が有効と考えられた。

索引用語：細胞療法，抗体療法，Herceptin，OK-432，NK 細胞

[Biotherapy 19 (5) : 430-434, September, 2005]

Cancer Cell Therapy with HER2-Specific Monoclonal Antibody

Toshimi Sudo and Atsushi Aruga

Division of Surgery, Graduate School of Medicine, Tokyo Woman's Medical University

Summary

We are presently attempting to develop a new cancer cell therapy using the patient's own autoimmune cells for immunotherapy against malignant tumors. We are now investigating the tumor-specific cytotoxic enhancing effect of the use of Herceptin, a specific monoclonal antibody against malignant tumor target molecules, together with the administration of activated immune cells with nonspecific cytotoxicity. An enhanced effect was found on HER2-positive tumor and HER2 weakly-positive tumor by combination with Herceptin due to LAK cell cytotoxicity induced by culture of peripheral blood mononuclear cells with IL-2 added. However, this effect was not recognized in HER2-negative tumors. The addition of OK-432 was effective in selective enhancement of CD3-negative, CD56-positive NK cells, the main cells with cytotoxic effects among LAK cells. When CD3-negative, CD56-positive NK cells selectively underwent activated propagation, there was a remarkable enhancement of cytotoxicity due to the combination with Herceptin as well as enhanced production of Type 1 cytokine. Based on the foregoing, the feasibility of cancer cell therapy in combination with Herceptin was demonstrated, and the use of OK-432 in the selective culture of effective NK cells was considered to be efficacious.

Key words : Cancer cell therapy, Antibody therapy, Herceptin, OK-432, NK cells

Address request for reprints to : Dr. Toshimi Sudo, Division of Surgery, Graduate School of Medicine, Tokyo Woman's Medical University, 8-1 Kawada-cho, Shinjuku-ku, Tokyo 162-8666, Japan

はじめに

悪性腫瘍に対する免疫療法は、古くは非特異的免疫細胞応答の増強から始まり、近年では癌抗原の同定に基づく癌抗原特異的免疫細胞応答の誘導へと発展している。その一方で、腫瘍特異的分子に対するモノクローナル抗体の作製とヒト化抗体作製技術の進歩により、抗体医薬の開発が急速に進歩しており、すでに一部の抗体医薬はある種の癌では標準治療薬となっている。抗体療法は抗体そのものが癌細胞に作用して細胞死（アポトーシス）を誘導する場合と、complement-dependent cytotoxicity (CDC) や antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity (ADCC) を介して抗腫瘍効果を発揮する場合があるが、このなかで ADCC 活性を介する抗腫瘍効果を示す抗体医薬では、抗原結合部位と反対側に Fc 部分を有しており、これに結合する CD16 分子を有する NK 細胞などの細胞傷害活性を増強することが考えられている（図1）。今回われわれは、HER2 陽性ヒト悪性腫瘍に対して、抗 HER2 モノクローナル抗体医薬である Herceptin の併用による活性化免疫細胞の細胞傷害活性増強効果を解析し、抗体医薬併用細胞療法の可能性について検討した。

I. HER2 陽性腫瘍に対する Herceptin の効果

Herceptin は腫瘍細胞膜上の HER2 分子と結合し、直接的に腫瘍細胞増殖抑制効果を示す。その作用はシグナル伝達経路の抑制や HER2 レセプターの細胞内移行と分解が関与すると考えられている。Herceptin が結合することにより、補体が活性化して細胞傷害活性を示す CDC や血管新生阻害作用も機序として考えられるが、抗体依存性細胞傷害作用（ADCC）が重要な役割を果たしていると考えられている。HER2 強陽性、弱陽性、陰性の腫瘍細胞株に Herceptin を単独で投与した場合、HER2 強陽性乳癌株の SK-BR-3 では $0.1 \mu\text{g/ml}$ の濃度から腫瘍細胞増殖の抑制効果が

認められたが、弱陽性胆嚢癌株の AG および陰性リンパ腫株の K562 では $10 \mu\text{g/ml}$ の濃度でも腫瘍増殖は抑制されず、Herceptin 単独での抗腫瘍効果は HER2 強陽性腫瘍でのみ確認された¹⁾。

II. HER2 陽性腫瘍に対する LAK 細胞の細胞傷害活性に及ぼす Herceptin の影響

健常人末梢血より単核細胞を採取し、interleukin (IL)-2 を $6,000 \text{ IU/ml}$ 添加した AIM-V 培養液にて2週間培養して誘導した LAK 細胞の細胞傷害活性を4時間クロミウム遊離試験にて測定した。誘導した LAK 細胞は HER2 強陽性株 SK-BR-3, HER2 弱陽性株 AG, HER2 陰性株 K562 に対して同等に細胞傷害活性を認めたが、標的腫瘍を Herceptin により前処理した場合には HER2 強陽性株 SK-BR-3, HER2 弱陽性株 AG に対して細胞傷害活性の増強が確認された。これに対し、HER2 陰性株 K562 に対しては増強効果は認められなかった（図2）。

III. NK 細胞の選択的活性化と抗体併用細胞療法への応用

われわれは LAK 細胞の細胞傷害活性が LAK 細胞中の CD3 陽性 T 細胞分画の除去では変化せず、CD56 陽性 NK 細胞分画の除去によりほとんど消失することを報告しており²⁾、これより CD3 陰性 CD56 陽性 NK 細胞が LAK 細胞の細胞傷害活性の主体であると考えられる。よって、CD3 陰性 CD56 陽性 NK 細胞を選択的に活性化増殖させることが可能であれば、抗体併用細胞療法における抗腫瘍効果増強に有効と推測される。そこで、NK 細胞を選択的に活性化増殖させる培養系を検討した結果、K562 腫瘍との混合培養、TNF- α + IL-1 β の添加培養、または OK-432 ($1 \mu\text{g/ml}$) の添加培養が NK 細胞の活性化増殖に有効であることを確認した³⁾。ヒト健常人末梢血単核細胞を IL-2 ($6,000 \text{ IU/ml}$) と OK-432 ($1 \mu\text{g/ml}$) 添加した AIM-V 溶液にて2週間培

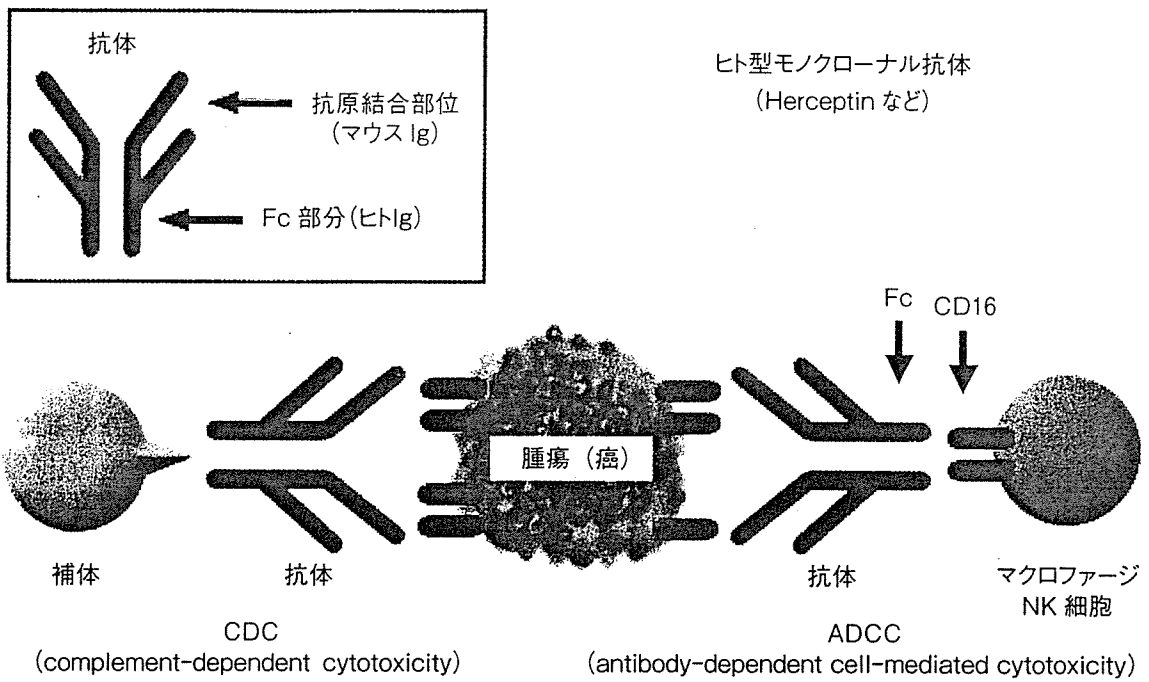


図1 モノクローナル抗体を併用した細胞療法

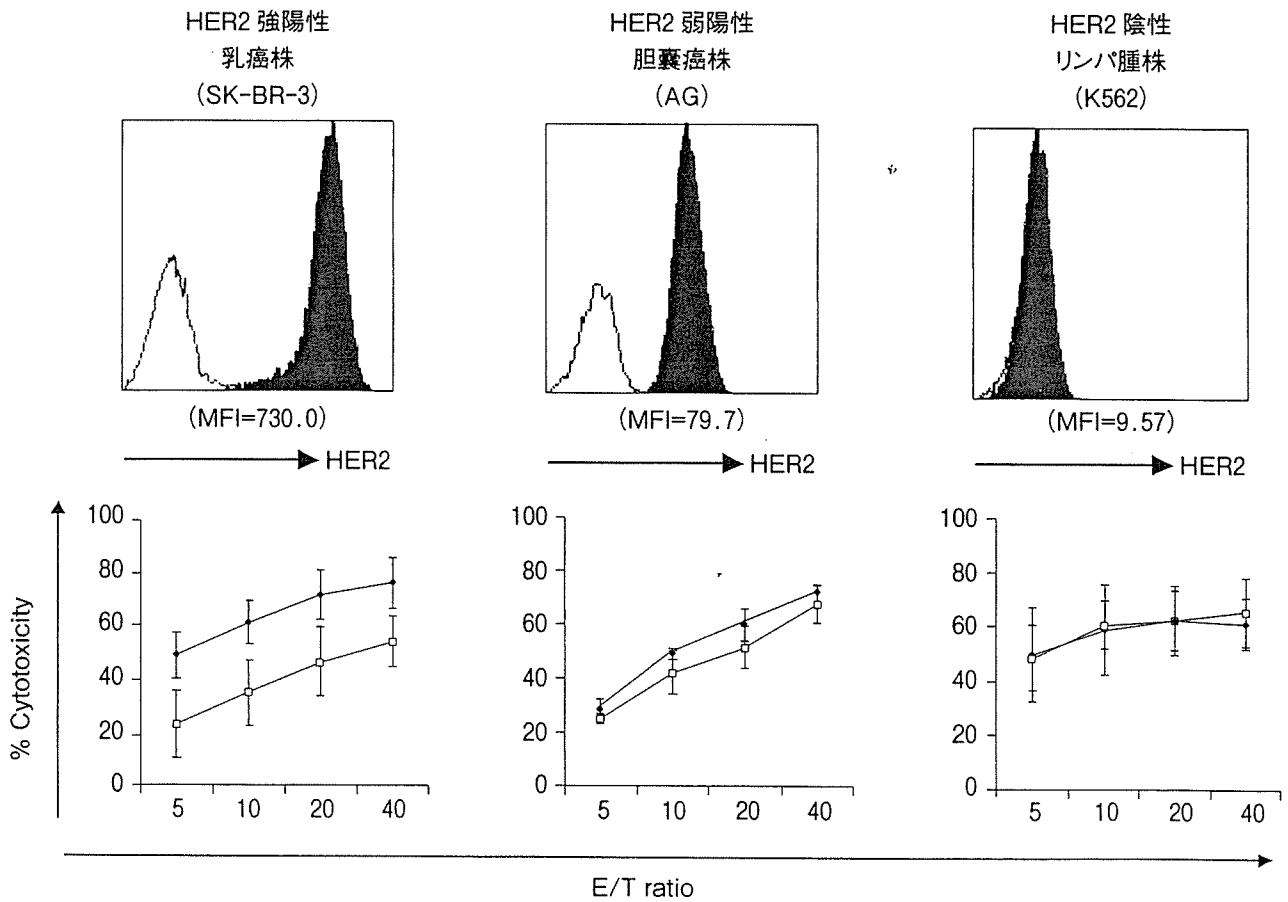


図2 Herceptin 併用による LAK の細胞傷害活性増強効果
 □: ヒト IgG1 添加 ◆: Herceptin 添加

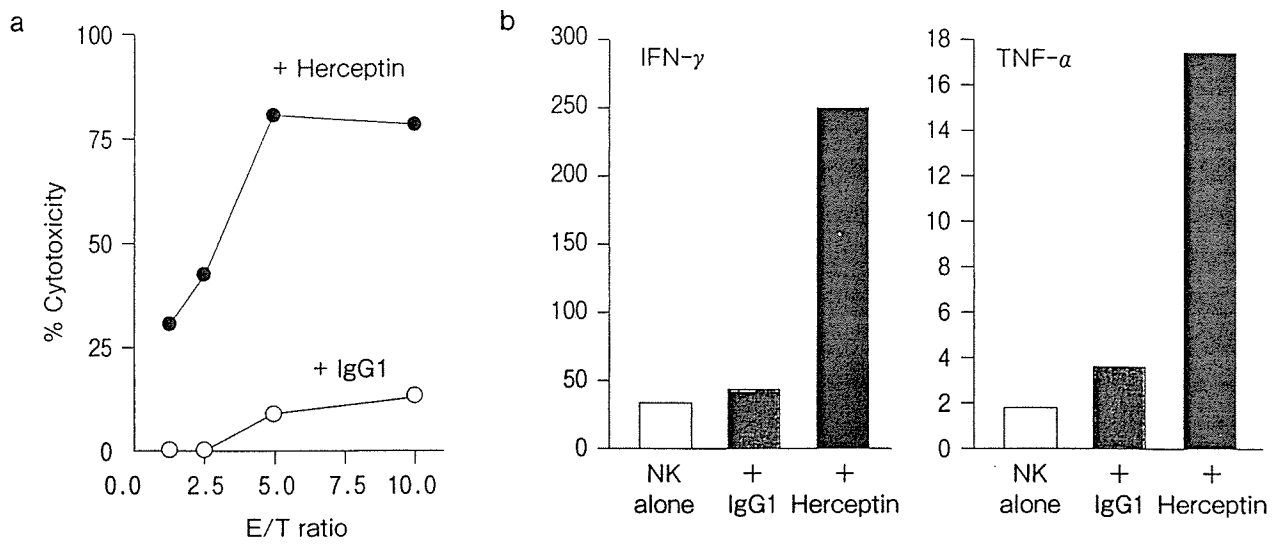


図3 OK-432 活性化NK 細胞の細胞傷害活性および Type 1 サイトカイン産生における Herceptin の併用効果
 a : Cytotoxicity to SK-BR-3 ○ : ヒト IgG1 添加 ● : Herceptin 添加
 b : Type 1 cytokine release

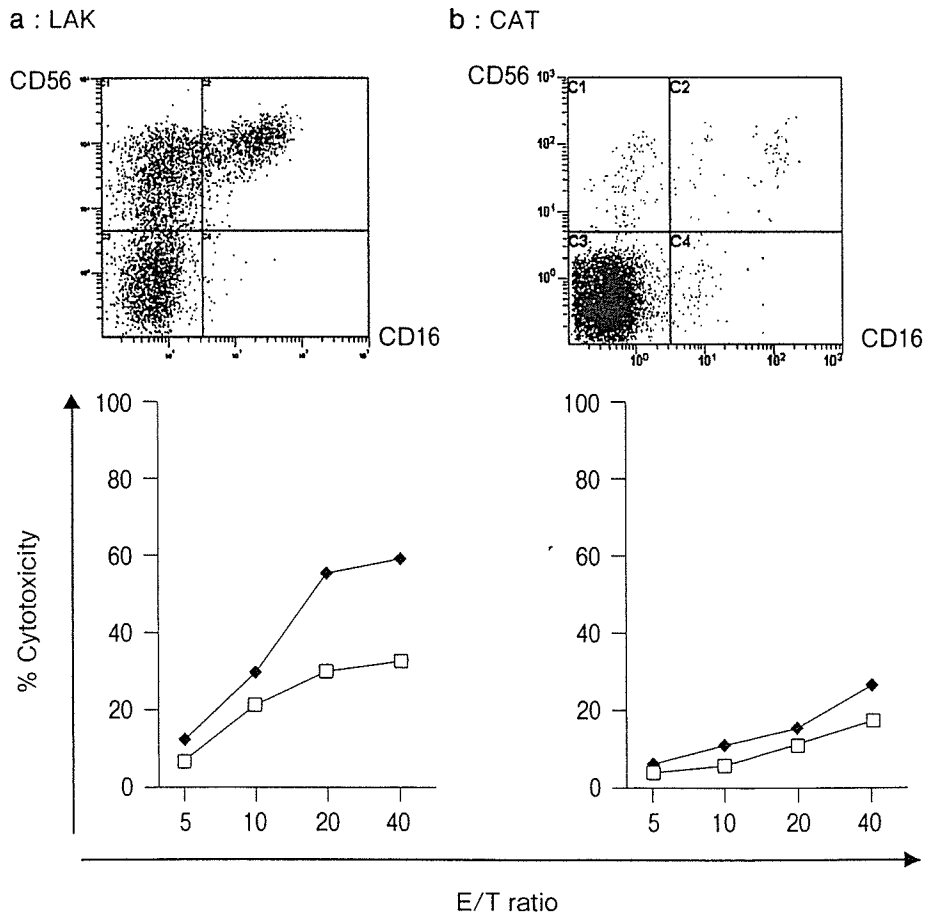


図4 CD3 活性化T 細胞 (CAT) の細胞傷害活性における Herceptin の併用効果
 □ : ヒト IgG1 添加 ◆ : Herceptin 添加

養することにより、CD3 陰性 CD56 陽性 NK 細胞比率を OK-432 非添加時の 20% から 70% に増加させることが可能であった。さらに、OK-432 添加にて NK 細胞を選択的に活性化増殖させることにより、Herceptin 添加による HER2 陽性腫瘍に対する細胞傷害活性は著明に増強し、同時に腫瘍細胞に反応した IFN- γ と TNF- α の産生も著明に増加した (図 3)。同 PBMC を固相化抗 CD3 モノクローナル抗体 (OKT3) と IL-2 にて活性化培養した CAT 細胞では 90% 以上が CD3 陽性 CD56 陰性 T 細胞であり、Herceptin 併用による細胞傷害活性の増強効果は認められなかった (図 4)。以上より、抗体医薬併用細胞療法における効果細胞として NK 細胞の選択的活性化増殖培養が効果的であることが示された。

IV. 考 察

近年の抗体医薬の開発は目覚ましく、これからの癌治療における有力な治療薬として期待されている。しかし、癌患者ではしばしば生体の免疫能が低下しており、NK 細胞の数および機能の減少が確認されている。よって、癌患者においては抗体医薬の作用、特に ADCCなどを介する作用が減弱することが考えられ、免疫細胞自体を強化する細胞療法との併用が重要となると推測される。われわれは悪性腫瘍に対する免疫細胞治療の研究を行ってきたが、当初の LAK 細胞などの非特異的免疫作用を応用した方法から最近では癌抗原特異的免疫細胞治療へと推移している⁴⁾。一般的には、抗原特異的免疫細胞療法が細胞傷害活性や Type I サイトカイン産生能などで LAK 細胞に代表される非特異的免疫療法より優れていると考えられているが、腫瘍分子特異的抗体を併用することに

より非特異的免疫細胞の細胞傷害活性が腫瘍特異的となり、増強することが今回確認された。この抗体医薬併用細胞療法の抗腫瘍効果をさらに上げるためには ADCC の主体である CD16 陽性 NK 細胞の働きが特に重要である。今回われわれは体外で NK 細胞の選択的活性化増殖法を確立し、臨床応用への可能性が示されたと考える。今後、多くの腫瘍特異的分子に対するモノクローナル抗体が医薬品として開発されることが推測され、それらの抗体医薬と NK 細胞療法の併用が多種の疾患にて検討されていくことが期待される⁵⁾。

おわりに

HER2 陽性腫瘍に対する Herceptin 併用細胞療法の有効性が示され、抗体併用細胞療法の可能性が示唆された。効果細胞として NK 細胞が重要であり、その選択的活性化増殖培養に OK-432 の利用が有効と考えられた。

文 献

- 1) Sudo, T., Aruga, A., Matsushita, N., *et al.*: OK432-activated natural killer cells enhanced trastuzumab-mediated antibody-dependent cellular cytotoxicity in patients with advanced cancer. *Anticancer Res.* (submitted)
- 2) 須藤俊美, 小林泰信, 有賀 淳・他: 非特異的免疫細胞治療における効果細胞の解析. *癌と化学療法* 30(11): 1817-1820, 2003.
- 3) 小林泰信, 須藤俊美, 有賀 淳・他: NK-Enriched LAK 細胞の培養とその有用性. *癌と化学療法* 30(11): 1776-1779, 2003.
- 4) 有賀 淳, 清水公一, 高崎 健: 消化器癌における免疫療法. *東京女医大誌* 74(6/7): 1-9, 2004.
- 5) 小峰啓史, 田中宜之, 中尾真修・他: 肺癌に対する抗 EGFR 抗体併用細胞療法の基礎的検討. 第 26 回癌免疫外科研究会抄録集, 2005, p.73.

4 術後肝癌再発抑制 を目指した 樹状細胞療法

しみず こういち
■清水 公一¹⁾

あるが あつし
・有賀 淳²⁾

東京女子医科大学消化器病センター外科助手1)
同大学院医学研究科がん免疫細胞治療学教授2)



清水公一
1991年千葉大学医学部卒業。同年、東京女子医科大学消化器病センター外科入局。97年 米国ミシガン大学腫瘍外科に留学。樹状細胞療法の研究に従事。2000年東京女子医科大学消化器病センター助手、大腸癌化学療法、肝臓外科を専門。2001年腫瘍免疫・免疫細胞療法チーム主任、臨床試験担当責任医師兼任。研究テーマは腫瘍免疫、大腸癌化学療法、肝臓外科。趣味は北海道旅行、テニス、スキー。

Key words : 樹状細胞ワクチン 再発抑制 肝細胞癌

Abstract

進展因子や肝内転移を伴う肝細胞癌は、治癒切除後の転移再発を抑制することが必要である。肝細胞癌に対して、自己リンパ球移入療法や癌ワクチン療法が施行され、奏功例や再発抑制効果が報告されている。自己癌抽出抗原を使用し、樹状細胞癌ワクチンと自己リンパ球移入の併用療法を、HCV陽性肝細胞癌の切除術後に施行し、再発抑制効果が得られるかを検討した。自己癌に対する獲得免疫が誘導された免疫反応陽性群では、手術単独群と比較して再発が約70%抑制された。

はじめに

ウイルス発癌である肝細胞癌では、外科切除にて肉眼的治癒切除が得られても、転移再発や多中心性再発の危険がある。特に進展因子(vp, vv, b)あるいは肝内転移(im)を伴う肝細胞癌では、治癒切除(区域切除以上)を施行しても、高率に転移再発をきたす。肝細胞癌の外科切除成績を向上させるためには、転移再発予防対策が必要である。

1. 背景

肝細胞癌に対しては、さまざまな癌免疫療法が研究・実施されてきた。1980年代後半から1990年代前半にかけては、肝動脈内に留置カテーテルを挿入してLAK細胞を注入する治療や、LAK細胞を点滴静注する治療が、切除不能多発性肝細胞癌を対象に施行され、臨床効果が認められた例も報告された^{1), 2), 3)}。しかし、肝動脈留置カテーテルから化学療法のみ行う場合と化学療法に加えてLAK細胞とIL-2を投与する場合とで、肝細胞癌術後の再発予防効果を調べる比較がなされたが、免疫化学併用療法の上乗せ効果は証明できなかった⁴⁾。1990年前半からは癌特異的細胞傷害性リンパ球であるCTL療法や、LAK細胞より簡便に培養する方法を用いたCAT療法が行われた。我々の施設は、切除不能多発性肝細胞癌に対して、肝動脈留置カテーテルからCTL細胞を投与して、3例の癌の消失、2例の癌の縮小を報告した⁵⁾。国立がんセンターは、肝細胞癌術後にCAT細胞を静脈投与することで、手術してから5年後の無再発生存率がCAT療法では38%、手術単独では22%となり、有意

に無再発生存率が向上することを報告した⁶⁾。しかし、手術してから5年後の全生存率はCAT療法では68%、手術単独では62%となり、手術後にCAT療法を行うことで生存率そのものが向上することは証明できなかった。

一方1990年代後半になってから、癌ワクチン療法が注目されるようになり、自己癌を利用した腫瘍ワクチン療法あるいは樹状細胞癌ワクチン療法が研究・実施されはじめた。多発性肝細胞癌に対して樹状細胞癌ワクチン療法を行うことで1例の腫瘍縮小、2例のAFPの低下が報告された⁷⁾。またB型肝炎併存の肝細胞癌で、手術後に自己腫瘍ワクチン療法を行うと無再発生存期間、全生存期間がともに延長することが報告された⁸⁾。

以上のことを踏まえて、肝細胞癌術後の転移再発を抑制して治療成績を向上させるために、我々の施設では、腫瘍抽出抗原をパルスした樹状細胞癌ワクチンと、抗CD3抗体とIL-2で培養・誘導した自己リンパ球を併用投与しているので、その概略を解説する。

2. 方法

我々は、各治療毎にアフエーシスを施行し、末梢血単核球(PBMC)をGM-CSFとIL-4で7日間培養し、樹状細胞を誘導している。最後の2日間はTNF- α を使用して樹状細胞の成熟化を促し、同時に腫瘍抽出抗原をパルスしている(図1)。またPBMCから抗CD3抗体とIL-2を用いて自己リンパ球を培養・誘導している(図2)。樹状細胞療法を施行しながら、毎回アフエーシスで採取したPBMCには、徐々に抗原特異的な前駆細胞(CD4とCD8 T細胞)の比率が増加する。その結果、培養・誘

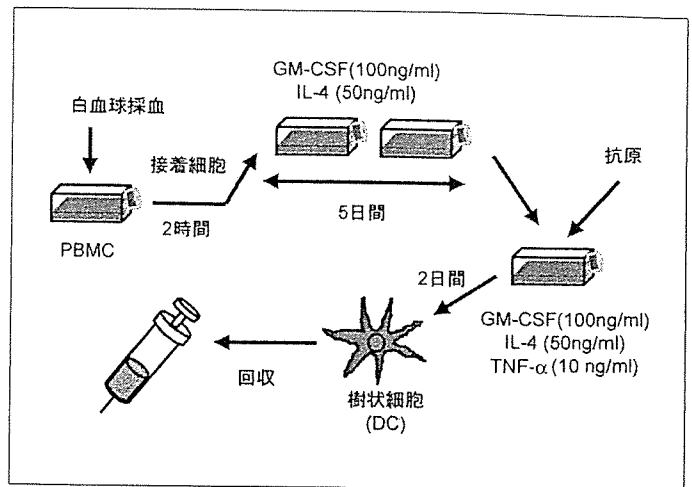


図1 樹状細胞の誘導・調整

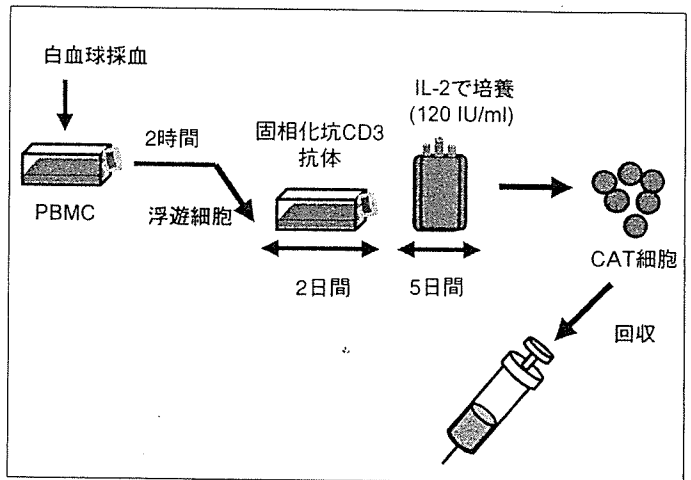


図2 自己リンパ球の培養・調整

導された自己リンパ球は、抗原特異的な細胞障害性CD8 T細胞と、抗原特異的にサイトカイン産生をするヘルパーCD4 T細胞を含むようになる。外科切除で摘出した腫瘍から抽出抗原を作製し、ヘルパー蛋白であるkeyhole limpet hemocyanin (KLH)を混合して樹状細胞にパルスする。KLHは、サロゲートマーカーになると同時に、腫瘍特異的ヘルパーCD4細胞の応答を強めることで、細胞障害性CD8 T細胞の抗腫瘍効果を増強する⁹⁾。

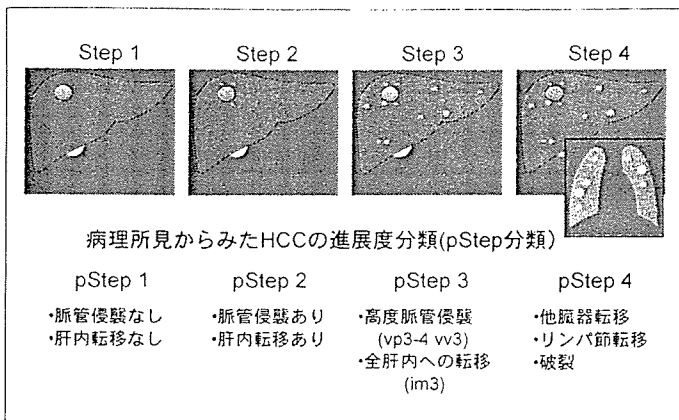


図3 HCCの進展度分類 (Step分類)

でも、約75%の症例で再発（特に転移再発）を起こしてくる。消化器病センター外科の切除例の検討では、術前画像診断で原発性肝癌取り扱い規約の単純結節周囲増殖型、多結節癒合型や塊状型を呈する肝細胞癌の80%以上が、病理所見で pStep2以上の進展度を示した。したがって、術前の肉眼型が単純結節周囲増殖型、多結節癒合型や塊状型を示す肝細胞癌が転移再発高危険群である。

4. 転移再発予防対策

1) 目的

術前の画像診断で単純結節周囲増殖型、多結節癒合型や塊状型を示すHCV陽性肝細胞癌を対象に、術後補助免疫細胞療法として癌免疫療法（免疫群）を行い、無再発生存率と全生存率の向上が認められるか否かを検討した。

2) 方法

1999年10月1日より、2005年8月31日まで、HCV陽性で腫瘍の最大径が2 cm以上、術前CT画像で単純結節周囲増殖型（多結節癒合型や塊状型を含む）を示す肝細胞癌の患者を登録した。インフォームドコンセントにて同意の得られた症例は免疫群に振り分け、同意の得られない症例は手術単独治療（手術単独群）としてクリニカルコントロールとした。術後摘出標本の病理所見から被膜外浸潤、脈管浸潤あるいは肝内転移を満たす症例を適格症例とした。プライマリーエンドポイントは全生存期間、セカンダリーエンドポイントは無再発生存期間とした。

3) 治療

免疫群は、T細胞移入と自己癌抽出抗原提

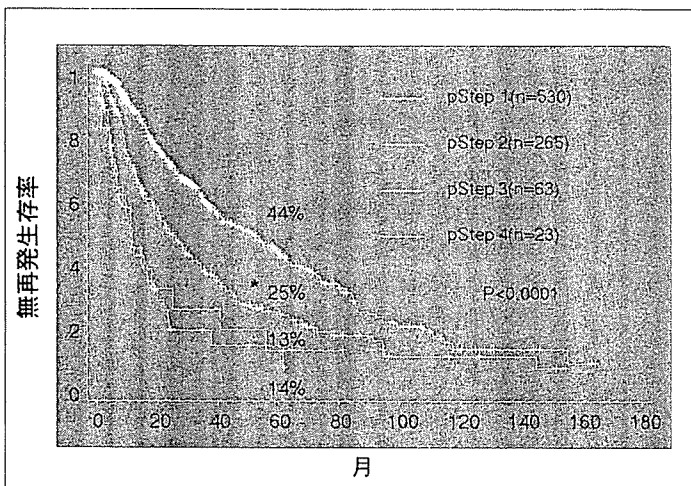


図4 無再発生存曲線

3. 肝細胞癌の転移再発高危険群

病理学的検討で、肝臓内に病変がとどまり脈管浸襲や肝内転移が認められない pStep 1、脈管浸襲や肝内転移を認める pStep2、高度の脈管浸襲(Vp3-4, vv3)や全肝内への転移(im3)を認める pStep3、他臓器転移、リンパ節転移や破裂を認める pStep4に分類すると（図3）、pStep2の5年無再発生存率は25%である（図4）。つまり、脈管浸襲や肝内転移を伴う肝細胞癌では、肝切除術で肉眼的治癒切除を行っ

示樹状細胞癌ワクチンの併用療法とした。手術直後から投与を開始すること、手術後3ヶ月以内に獲得免疫を成立させること（自己癌に対して免疫反応が陽性化すること）を目安にして、獲得免疫の成立を示す免疫反応の陽性化までは併用療法を継続した。T細胞移入療法は静脈投与あるいは肝動脈注入のいずれかとした（図5）。

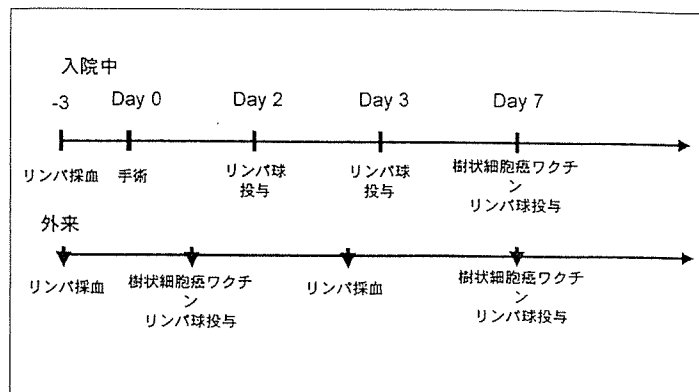


図5 癌免疫療法の概要
術後3ヶ月以内に、樹状細胞ワクチンと自己リンパ球移入の併用療法を最低計4回施行し、皮内反応を陽性化させることを目標とした。陽性化することで、無再発生存期間の延長、全生存期間の延長が認められるか否か？をエンドポイントにした。

4) 患者登録

1999年10月から2005年8月までに95例の患者が登録された。インフォームドコンセントで同意の得られなかった68例は手術単独群、同意の得られた27例は免疫群として、病理所見で被膜外浸潤、脈管浸潤あるいは肝内転移の認められなかった症例は除外し、手術単独群62例、免疫群20例を適格症例として登録した（図6）。

5) 患者背景因子

性差，年齢，Child-pugh分類，非癌肝の状態，肝トランスアミナーゼ値，腫瘍径，ICGR15，stage，脈管浸潤，肝内転移，術式に各群で差がないかを検討したが，有意差は認められなかった。

6) 結果

登録された全82症例の無再発生存曲線は図7のようになった。手術単独群の50%無再発生存期間は14ヶ月(95% CI 9-19ヶ月)，免疫群では15ヶ月(95% CI 11-29ヶ月)であった。免疫群で、免疫反応が陽性化した群（自己癌に対する免疫応答が誘導された群）でサブセット解析を行ったところ，免疫陽性群では手術単独群と比較して有意差をもって，50%無再発生存期間が延長していた(not reached vs 14ヶ

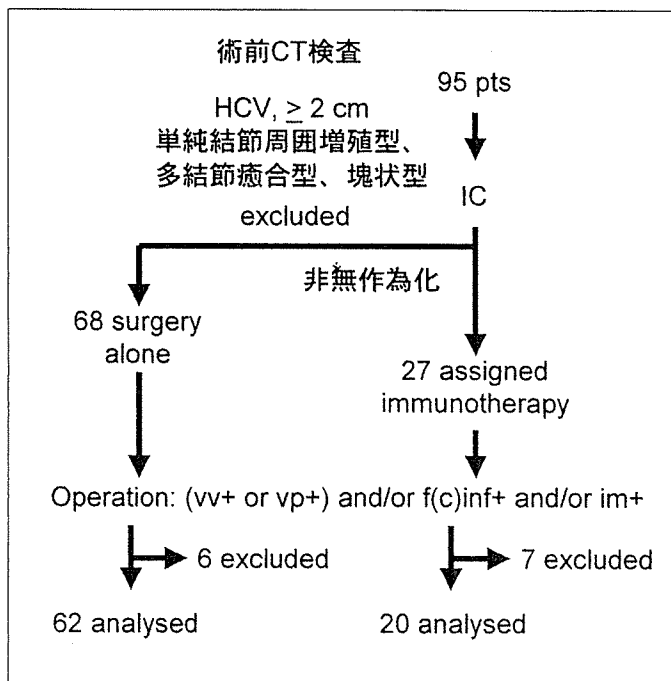


図6 患者登録

月, p=0.0158) (図8)。Coxの比例ハザードモデルで解析すると，手術単独群と比較して免疫反応陽性群は，ハザード比は0.293 (95% CI 0.104-0.822)でp=0.020であった。つまり免疫反応陽性群では，手術単独群と比較して，再

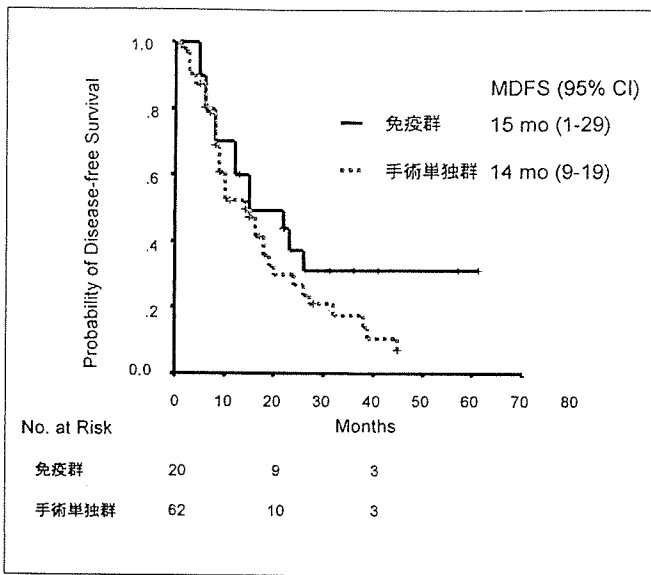


図7 無再発生存曲線

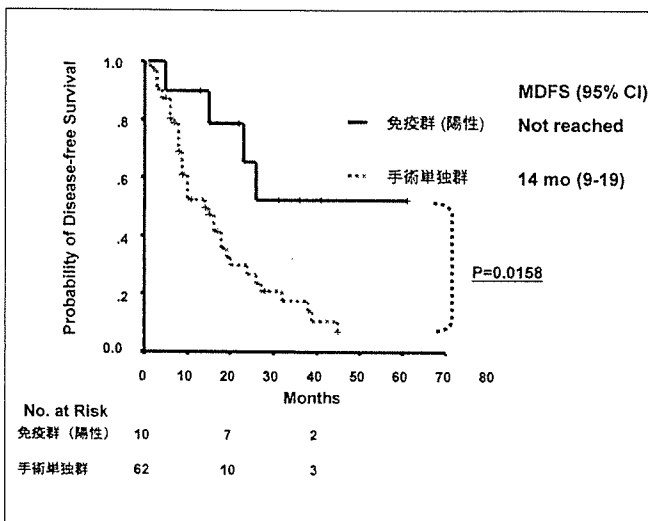


図8 免疫群（陽性）の無再発生存曲線

発が約70%程度抑制された。

7) まとめ

進展因子あるいは肝内転移を伴うHCV陽性肝細胞癌の治癒切除後に、補助免疫細胞療法を施行することで再発抑制が得られた。抗原に対する獲得免疫が確立（免疫反応の陽性化）しないと再発抑制効果は認められなかったこ

とから、免疫反応陽性化を術後早期に達成することが治療効果を得るために必要であると考えられた。

おわりに

HCV陽性肝細胞癌では、長期予後は肝障害（肝不全死、静脈瘤破裂死など）や多中心性再発も関与してくるため、補助療法が全生存期間を改善するかどうかの評価は難しい。我々の補助免疫細胞療法が、HCV陽性肝細胞癌術後の全生存期間を改善するかは、今後の観察を待たなくてはならない。しかし、獲得免疫を利用した免疫療法が、さまざまな感染症の発症やHPV由来の子宮頸がん発癌を抑制することから、進行癌術後の微小遺残に対して、樹状細胞癌ワクチンを中心とした補助免疫細胞療法が今後普及することを期待してやまない。

文献

1. Ichida, T., Higuchi, K., Arakawa, K., et al: Cancer Chemother Pharmacol. 23 Suppl: S45-48, 1989.
2. Onishi, S., Saibara, T., Fujikawa, M., et al: Hepatology.. 10: 349-353, 1989.
3. Yeung, A. W., Pang, Y. K., Tsang, Y. C., et al: Cancer. 71: 3633-3639, 1993.
4. Kawata, A., Une, Y., Hosokawa, M., et al: Am J Clin Oncol. 18 : 257-262, 1995.
5. Haruta, I., Yamauchi, K., Aruga, A. et al: J Immunother Emphasis Tumor Immunol, 19: 218-223, 1996.
6. Takayama, T., Sekine, T., Makuuchi, M., et al: Lancet, 356: 802-807, 2000.
7. Iwashita, Y., Tahara, K., Goto, S., et al: Cancer Immunol Immunother. 52: 155-161, 2003.
8. Kuang, M., Peng, B. G., Lu, M. D., et al: Clin Cancer Res., 10: 1574-1579, 2004.
9. Shimizu, K., Thomas, E. K., Giedlin, M., et al: Cancer Res. 61: 2618-2624, 2001.

BioInformation

第29回 日本嚔下医学会総会・学術講演会

日本嚔下医学会では下記日程にて総会・学

術講演会を開催いたします。

会 期：2006年2月2日（木）～3日（金）

会 場：京都府立医科大学 図書館ホール

会 場：久 育男（京都府立医科大学耳鼻咽喉科学教室）

※本誌バックナンバーも会場にて展示販売の予定です。

お気軽にお立ち寄り下さい。