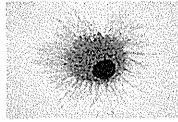
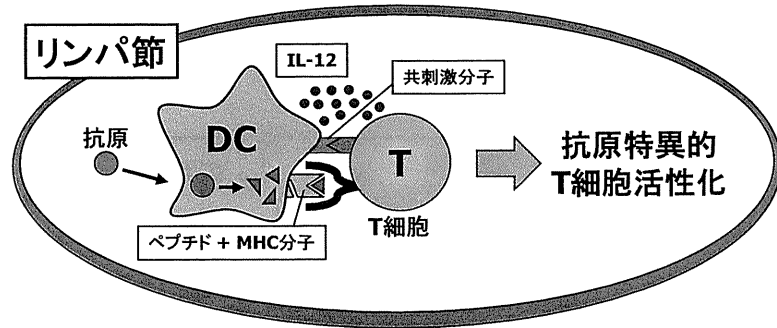


# 樹状細胞 (Dendritic cell; DC)



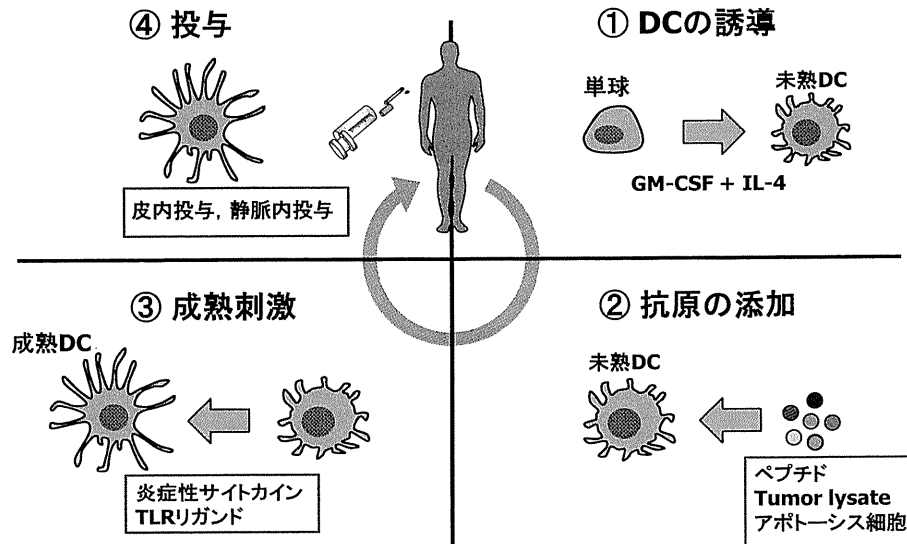
- 抗原を取り込んでペプチドに分解し、ペプチドとMHC分子を結合させたものを発現する抗原提示細胞
- T細胞の活性化に必要な、種々の分子を発現
- ヒト生体内で抗原特異的T細胞を最も強力に活性化できる細胞



# よく行われるがん免疫療法

1. ペプチドワクチン
2. DCワクチン(樹状細胞療法、DC療法)
3. リンパ球輸注療法
  - 活性化リンパ球(非特異的)
  - 抗原特異的T細胞療法

# DC療法(DCワクチン)の方法



# 免疫療法に用いられる腫瘍抗原

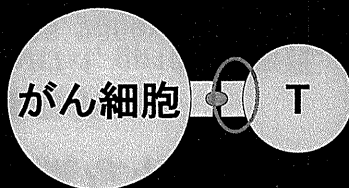
抗原	癌の種類
腫瘍特異抗原 免疫グロブリンイディオタイプ bcr-abl融合蛋白	成熟B細胞性腫瘍 CML
ウイルス抗原 EBウイルス ヒトパピローマウイルス	EBウイルス関連腫瘍 子宮頸癌
癌精巢抗原 MAGE, NY-ESO-1	メラノーマ、各種癌
過剰発現した自己抗原 Her-2/neu WT1 CEA テロメラゼ	乳癌、卵巣癌、肺癌 急性白血病、各種癌 大腸癌 各種癌
組織特異的自己抗原 チロシナーゼ、gp100 前立腺酸フォスファターゼ	メラノーマ 前立腺癌

# DC療法

長所	短所
<ul style="list-style-type: none"> <li>樹状細胞に確実に抗原を提示させることができる</li> <li>樹状細胞をin vitroで最適化しやすい</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>手間がかかる</li> <li>高コスト</li> <li>大部分の樹状細胞が皮膚にとどまる</li> </ul>

# T細胞輸注療法

- T細胞を体外で増やし、投与する。
- 活性化リンパ球療法(非特異的)
- 腫瘍浸潤リンパ球
- 遺伝子改変T細胞



# メラノーマに対する ワクチン療法の治療成績

がんワクチン	全患者数	奏効患者数	奏効率(%)
ペプチドワクチン	410	11	2.7
ウイルスベクター	160	3	1.9
サイトカイン遺伝子 導入がん細胞	43	2	4.6
樹状細胞	116	11	9.5

Banchereau J, et al. Nat Rev Immunol 5: 296, 2005.

# DC療法 初のFDA承認

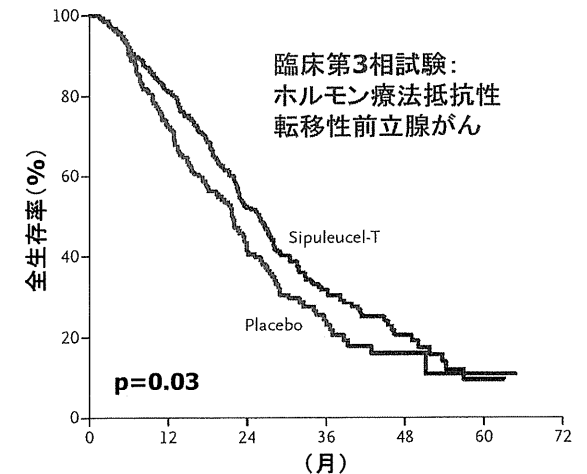
Dendreon社 PROVENGE®

末梢血DC濃縮分画

DC ~20%  
T ~65%  
Mo ~15%  
B ~5%

PAP/GM-CSF  
融合タンパク質

PAP GM-CSF



生存期間中央値 4.1ヶ月延長

2010年4月29日  
FDAにより承認

Kantoff et al, 2010, N Engl J Med

## 重篤な有害事象

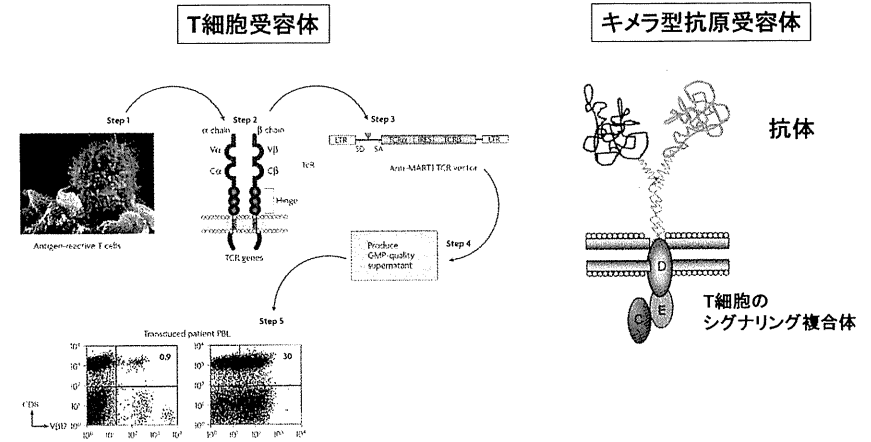
- T細胞受容体遺伝子
  - メラノーマ MART-1, gp100 → 白斑、ぶどう膜炎、難聴 (Blood 114: 535, 2009)
  - 大腸癌 CEA → 腸炎 (Mol Ther 19: 620, 2011)
- キメラ型抗原受容体
  - 慢性リンパ性白血病 CD19 → サイトカインストーム、死亡 (Mol Ther 18: 666, 2010)
  - 大腸癌 HER-2 → 急性肺障害、死亡 (Mol Ther 18: 843, 2010)

- 腫瘍特異性
- 腫瘍量

## T細胞輸注療法

長所	短所
<ul style="list-style-type: none"> <li>• 大量の腫瘍反応性T細胞を投与できる</li> <li>• T細胞の機能をin vitroで最適化しやすい</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• 手間がかかる</li> <li>• 高コスト</li> <li>• 腫瘍特異性が乏しいと強い副作用が起こりうる</li> </ul>

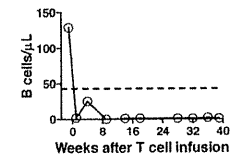
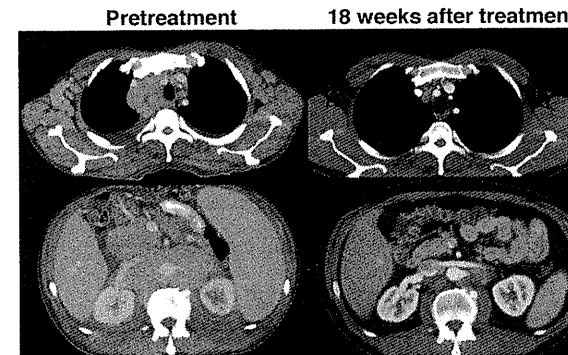
## T細胞受容体遺伝子の導入



Nature Reviews Cancer 8;299, 2008

## 抗CD19遺伝子導入T細胞の輸注

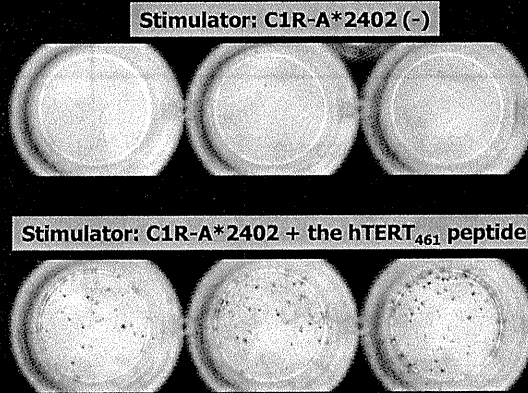
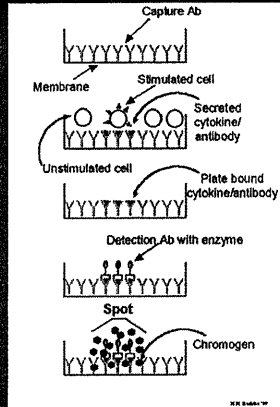
濾胞性リンパ腫



Blood 116(20):4099, 2010

# ELISPOT assay

hTERT<sub>461</sub> ペプチドに反応してIFN- $\gamma$ を産生する末梢血T細胞



数と機能

免疫療法 → 免疫反応 → 臨床効果

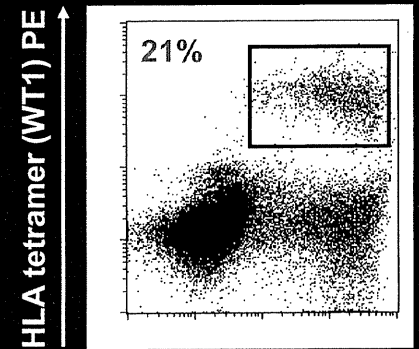
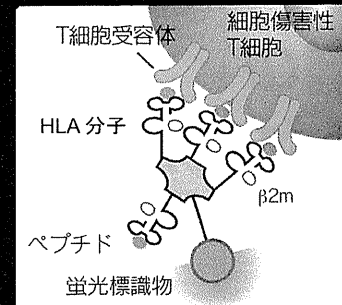
免疫反応がきちんと起こっているかどうか調べる(免疫モニタリング)。

1.

2.

3. 私たちの取り組み

# HLA tetramer assay



HLA tetramer :  
抗原特異的なT細胞受容体を持つT細胞に結合する

数

# 高齢者AMLに対する免疫療法

## ■ 高齢者のAMLが予後不良である理由

1. 併存症の増加, 臓器機能の低下により, 強力な治療に耐えられない

腫瘍への特異性がより高く,  
正常組織への侵襲が少ない治療

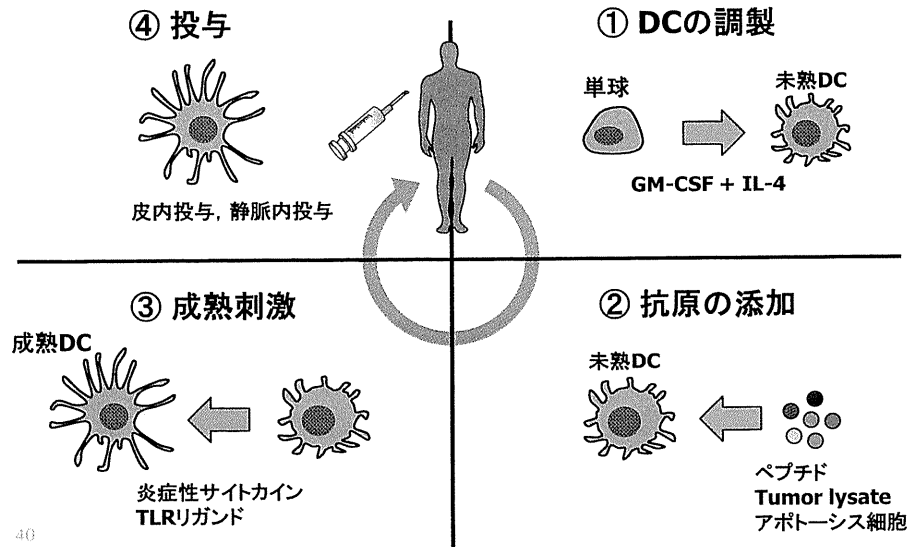
2. 薬剤耐性の増加

化学療法と作用機序が異なる治療法

**= 免疫療法**

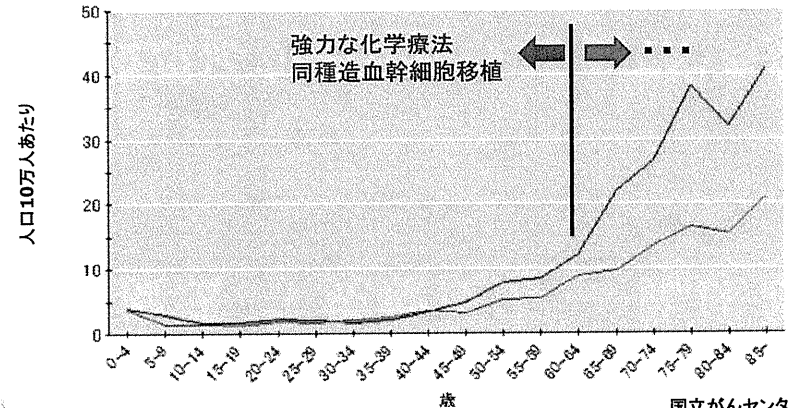
# 高齢者の急性骨髄性白血病 (AML) に対する樹状細胞療法の臨床試験

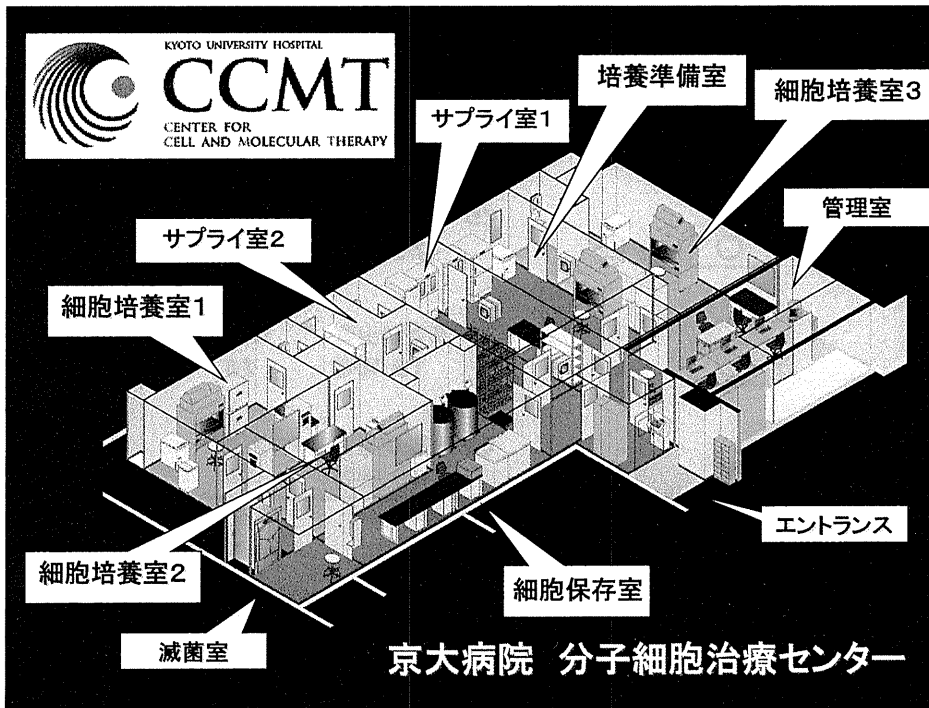
## DC療法 (DCワクチン) の方法



## 高齢者のAML

- 年齢とともに罹患率が上昇 (発症年齢中央値 68歳)
- 予後不良
  - 白血病 2年生存率 6% (65才以上, 米国)



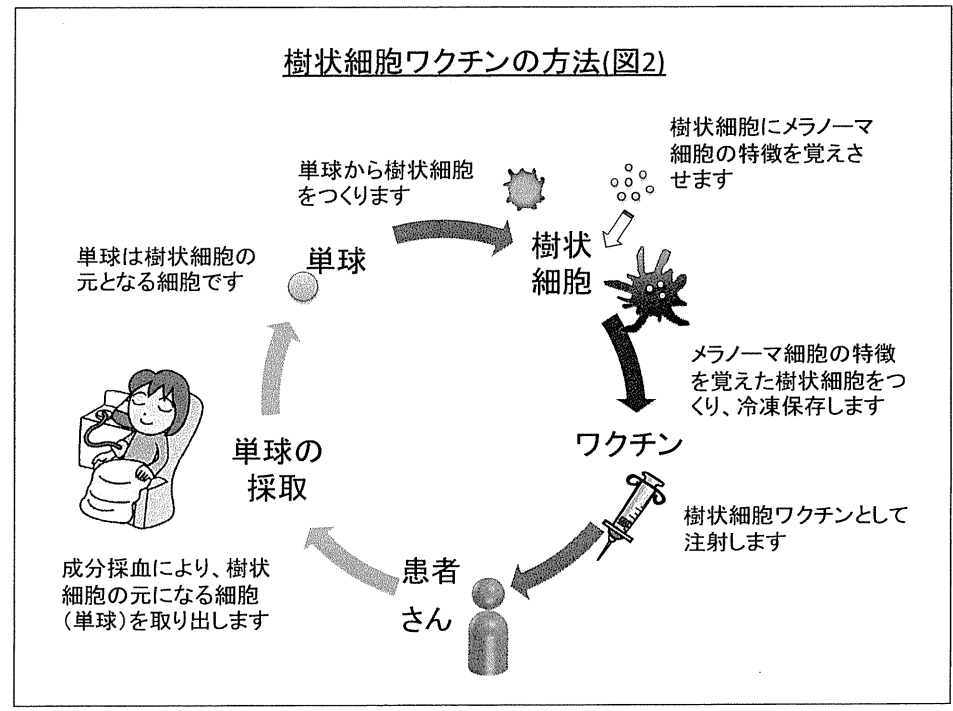


## 臨床試験プロトコール

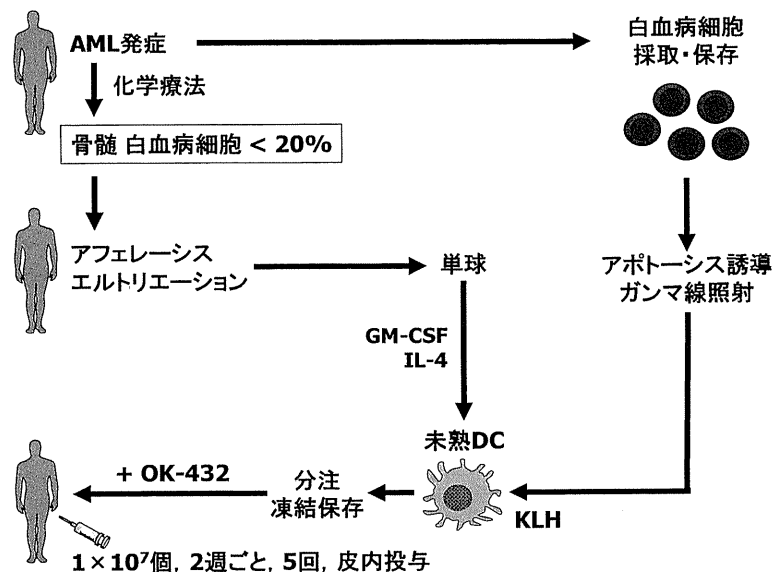
	プロトコール1	プロトコール2
抗原	アポトーシス誘導 自己白血病細胞	HLA-A24拘束性 WT1改変ペプチド
成熟刺激	OK-432	TNF- $\alpha$ + PGE <sub>2</sub>
その他の 免疫増強法	投与部位に 炎症を誘導	ゾレドロン酸による $\gamma\delta$ T細胞活性化
主エンドポイント	安全性	
副エンドポイント	免疫反応 臨床効果	

## 単核球から単球を単離するのに エルトリエーションを行った GAMBRO ELUTRA®

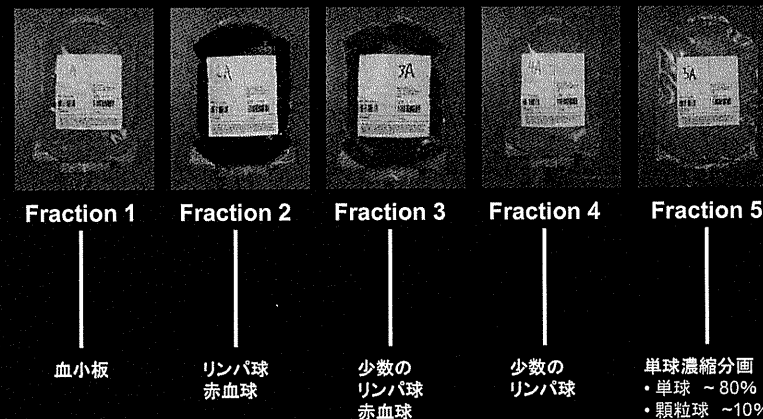
Gambro社資料を改変



## プロトコール1



## エルトリエーションの産物

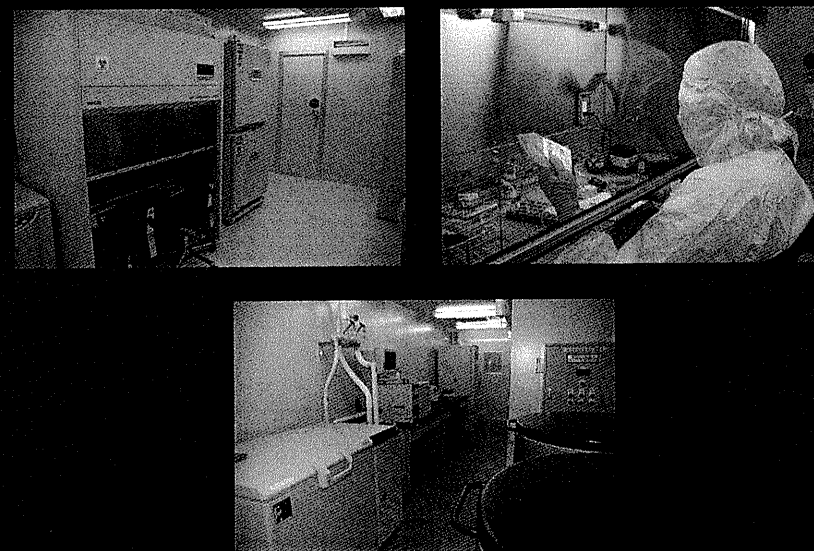


Gambro社資料を改変

## プロトコール1 結果

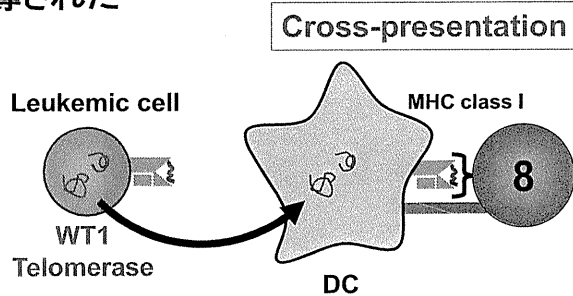
患者	有害事象	免疫反応	
		KLH	白血病細胞
#1 76/F	発熱: G1 局所の発赤: G2	○	X
#2 75/M	発熱: G1 局所の発赤: G2	○	○
#3 70/M	発熱: G2 局所の発赤: G2	○	○
#4 66/M	発熱: G1 局所の発赤: G2	X	X

## CCMT内で単球を培養しDCを誘導



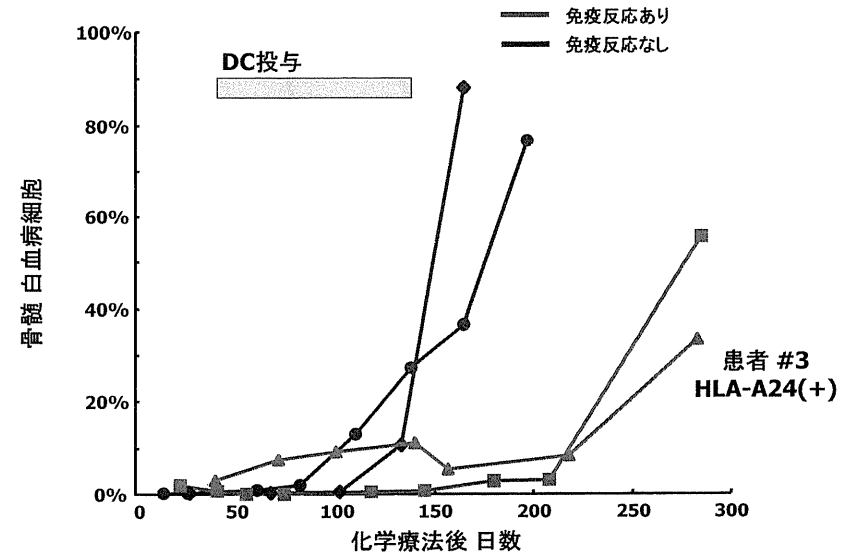
# プロトコール1

- 自己白血病細胞を貪食したDCのワクチンによって、特定の白血病抗原に特異的なCD8<sup>+</sup> T細胞の反応が誘導された

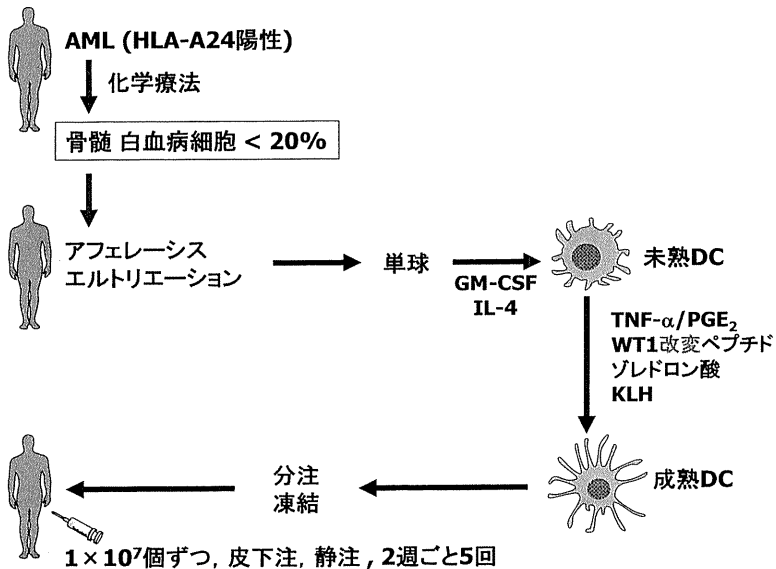


Kitawaki et al. Experimental Hematology 2011

# プロトコール1: 臨床経過



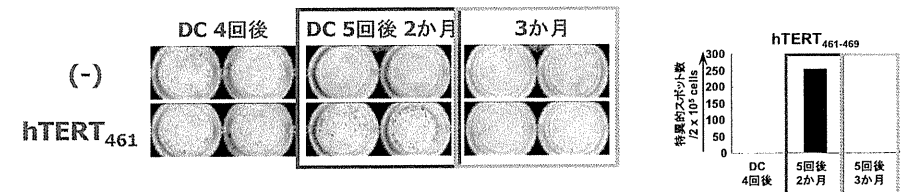
# プロトコール2



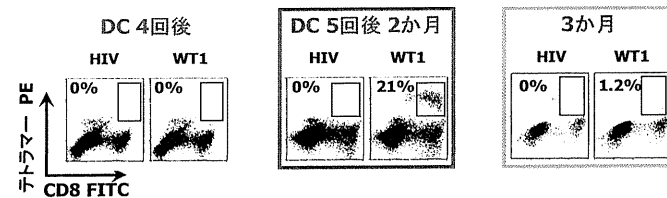
# 患者#3: 白血病細胞への免疫反応

In vitroで抗原刺激後にアッセイ

IFN- $\gamma$  ELISPOTアッセイ (HLA-A24拘束性 テロメラゼ<sub>461</sub> ペプチド)



HLA テトラマー染色 (HLA-A24拘束性WT1<sub>235</sub> ペプチド)





## HLA-A24拘束性 WT1 ペプチド 天然型 vs. 改変型


235 243

天然型 **C** **M** **T** **W** **N** **Q** **M** **N** **L**

改変型 **C** **Y** **T** **W** **N** **Q** **M** **N** **L**

○ HLAアンカー残基      8-10アミノ酸

• 白血病細胞は天然型ペプチドを発現  
• 改変型ペプチドで誘導されたT細胞は、天然型ペプチドを認識するか？



MHCクラスI

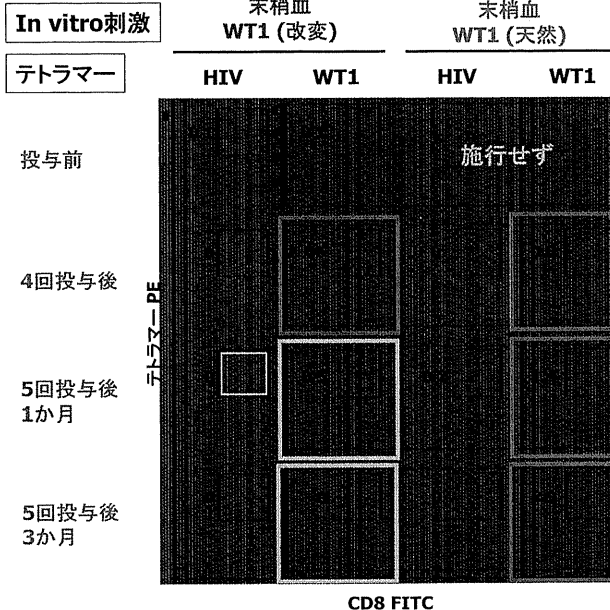
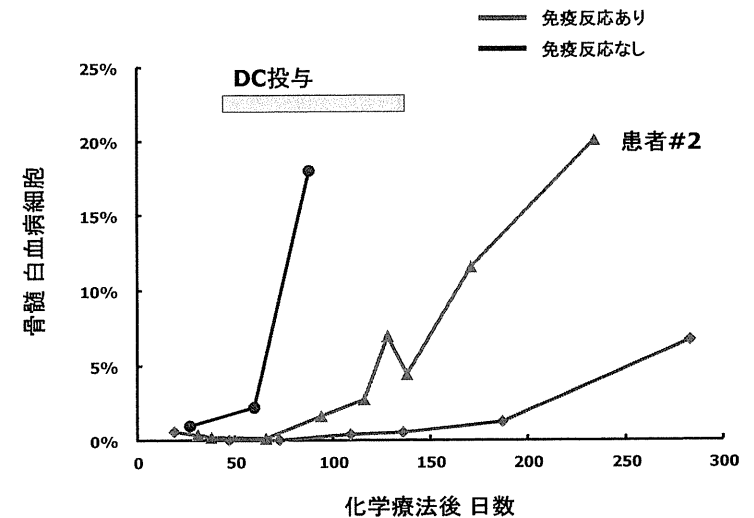
Cancer Immunol Immunother 51: 614, 2002

55

## プロトコール2 結果

患者	有害事象	免疫反応	
		KLH	WT1
#1 77/F	局所の反応: G2	X	X
#2 68/F	局所の反応: G2	○	□
#3 76/M	局所の反応: G2	○	□

## プロトコール2 臨床経過



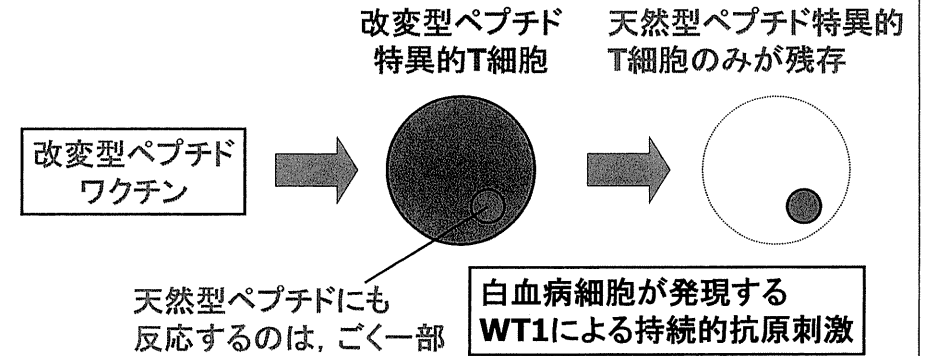
## 第IV期メラノーマに対する免疫療法の 安全性および有効性に関する探索的 臨床試験

血液・腫瘍内科 門脇 則光、北脇 年雄  
皮膚科 宮地 良樹、谷岡 未樹、藤澤 章弘  
探索医療センター 伊藤 達也、豊岡 慎子

## メラノーマ(悪性黒色腫)の治療法

- 一般的な治療法 効果に限界がある
  - 手術
  - 化学療法
  - 放射線療法
  - インターフェロン
- 新しい治療法
  - 免疫療法

## WT1天然型ペプチド特異的 CD8<sup>+</sup> T細胞の維持



Kitawaki et al. British Journal of Haematology 2011

## AMLに対するDC療法

- 高齢者に対し、安全に施行可能
- 7例中4例で白血病細胞に対する免疫反応が誘導され、臨床効果との相関が示唆された
- ワクチンにより誘導された腫瘍特異的な免疫反応は持続期間が短かった
- 腫瘍特異的免疫反応を持続させるようにワクチンを改良することによって、臨床効果が増強されるかもしれない

# 臨床試験で苦労したところ

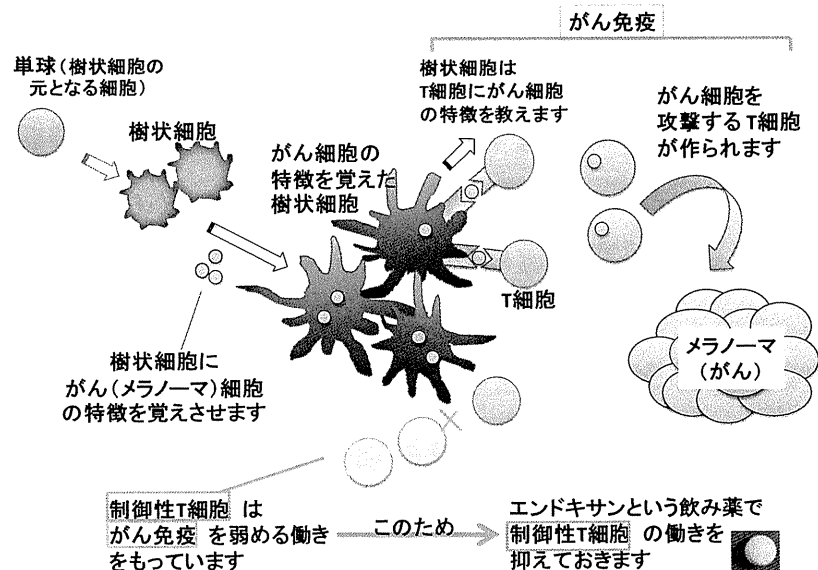
- 申請書類の作成
- 協力施設への“営業”活動
- 関連部署との連携
- 細胞プロセッシング
- 免疫モニタリング
- 症例報告書(CRF)の作成
- 論文の作成

失敗できない  
失敗できない

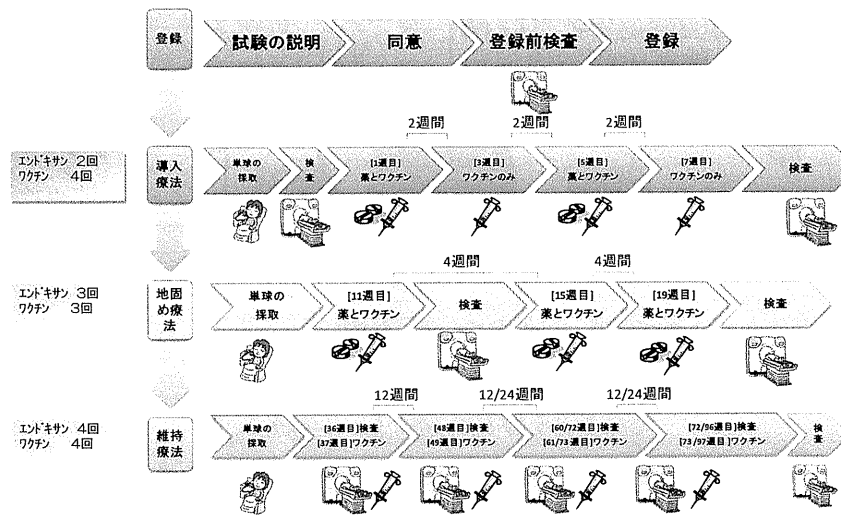
# 多くの部門の共同事業

- 血液・腫瘍内科
- 皮膚科
- 探索医療センター
- 輸血細胞治療部
- 人工腎臓部
- 検査部
- 病棟
- 外来
- 共同研究先企業

樹状細胞ワクチンとエンドキサンによる免疫療法(図1)



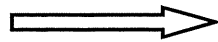
# 臨床試験の流れ



## 免疫療法の効果を上げるには

1. 高機能のT細胞をいかに多く腫瘍巢に集積させるか
2. 免疫抑制因子の除去
3. 腫瘍量が少ない時期での投与
  - 再発／増悪予防、再発早期での治療
4. 癌幹細胞の殺傷
5. 効く人と効かない人をどうやって見分けるか

**臓器不全: 多くの死亡、QOLの低下**



**再生医療の必要性**

肝疾患 **15,885**  
(肝癌を除く)

腎不全 **19,117**

糖尿病 **12,637**

総死亡数 **1,028,602**  
(平成16年度 厚労省)

肝移植  
**5千(累計)**

腎移植  
**5~600/年**

糖尿病患者  
**850万**

糖尿病関連の失明  
**4千/年**

糖尿病性腎症による  
透析導入  
**1.5万以上/年**

ラ氏島移植  
**17(累計)?**

**臨床応用にむけたiPS細胞の現状と課題**

京都大学 iPS細胞研究所 規制科学部門  
*Center for iPS Research and Application (CiRA)*

青井 貴之 「サイラ」



2011/12/14  
細胞育成学講座  
(於 人間健康科学科)

**細胞移植治療**

必要な種類の細胞を、必要な量、体内に移植。

何にでもなれる、いくらでも増える、という性質をもつ  
「多分化能」 「自己複製能」

胚性幹細胞 (Embryonic Stem cell; ES細胞)  
= 再生医療の資源として有力。

**iPS細胞**

induced Pluripotent Stem cell

人工多能性幹細胞 = 人工万能細胞

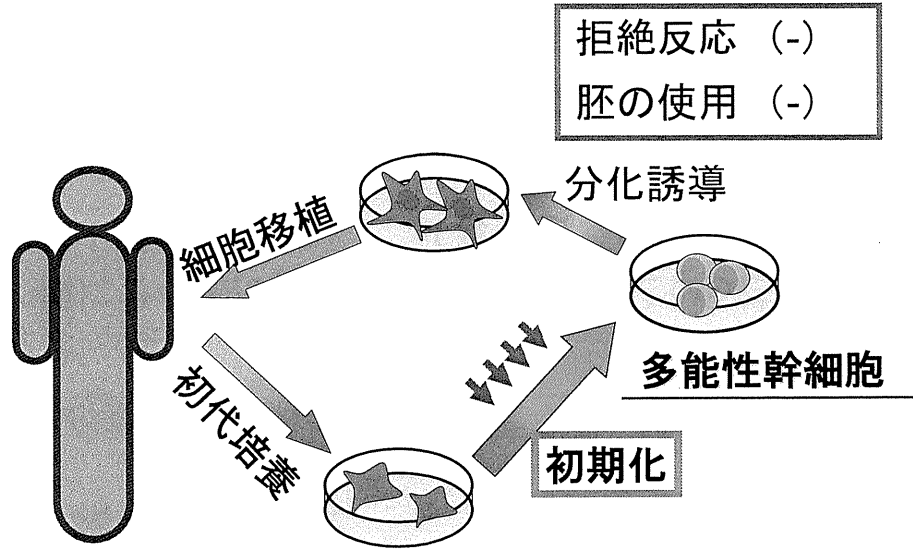
(学術書等)

(一般向け)

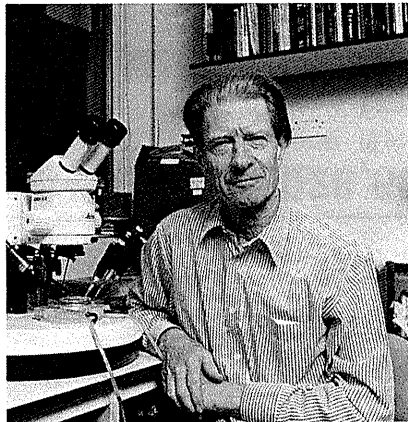
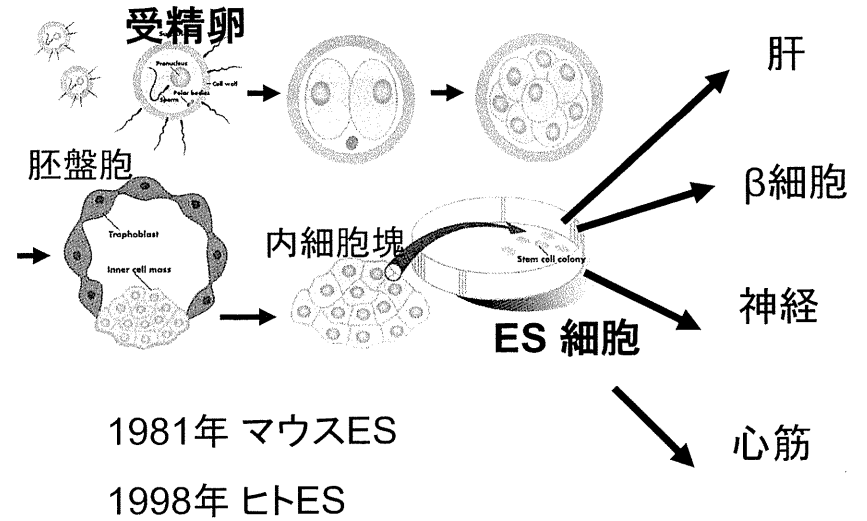
多能性 : 様々な細胞になることができる  
幹細胞 : 自己複製できる

⇒ 「何にでもなれて、いくらでも増えられる細胞」

# 自己由来の多能性幹細胞を用いた再生医療

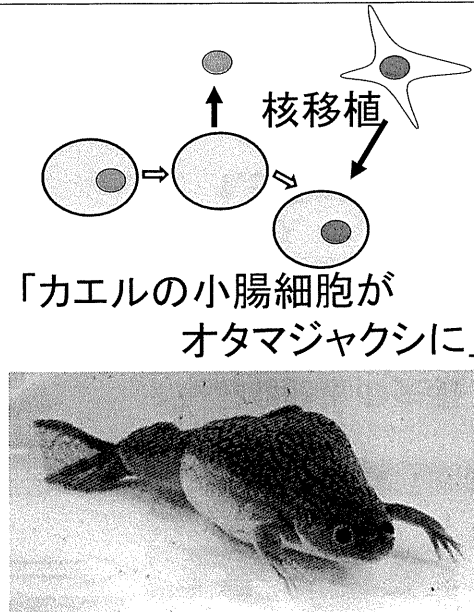


# 胚性幹細胞 (Embryonic Stem cell; ES細胞)



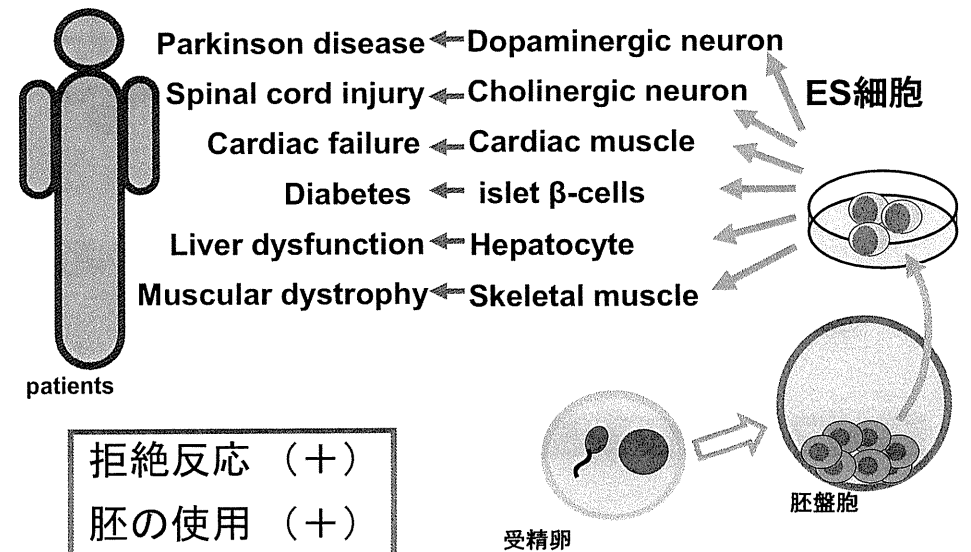
John Gurdon  
クローンカエル

“Fertile” intestine nuclei  
Nature. 1966



Gurdon JB. 2006.  
Annu. Rev. Cell Dev. Biol. 22:1-22

# ES細胞による細胞移植医療

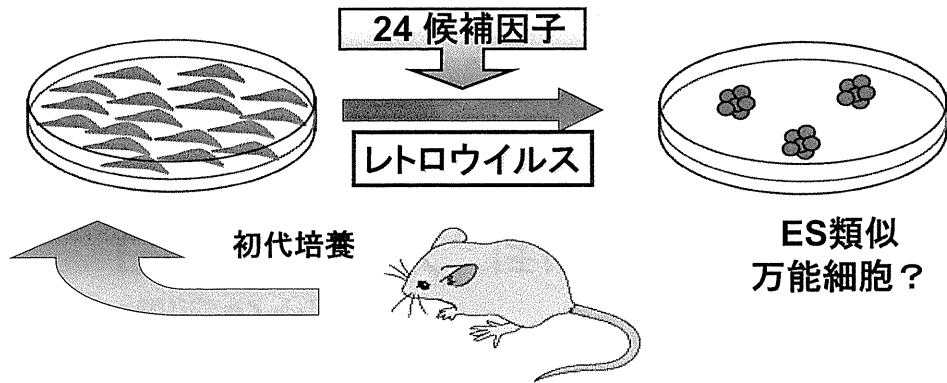


拒絶反応 (+)  
胚の使用 (+)

## 初期化因子の探索

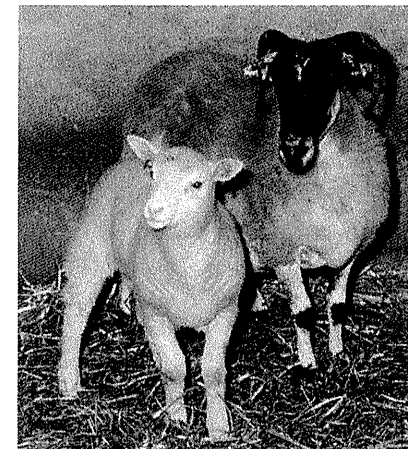
仮説:

初期化因子  
 || 特異的に発現  
 ES細胞で { 重要な働き



Takahashi and Yamanaka Cell 2006

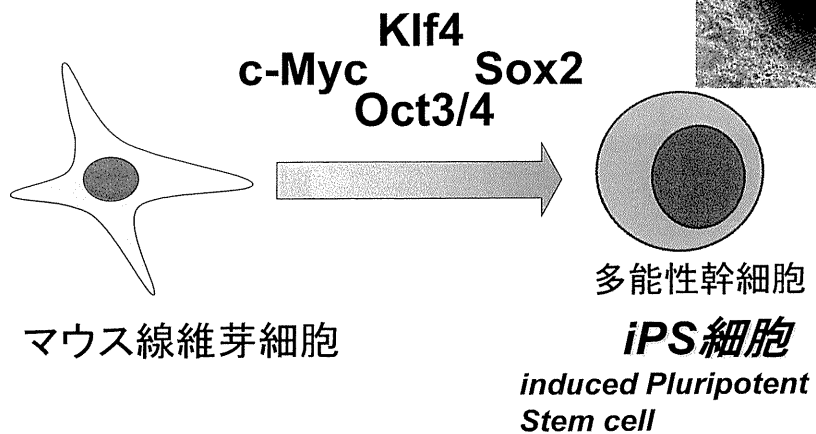
Ian Wilmut



羊の乳腺が羊に!

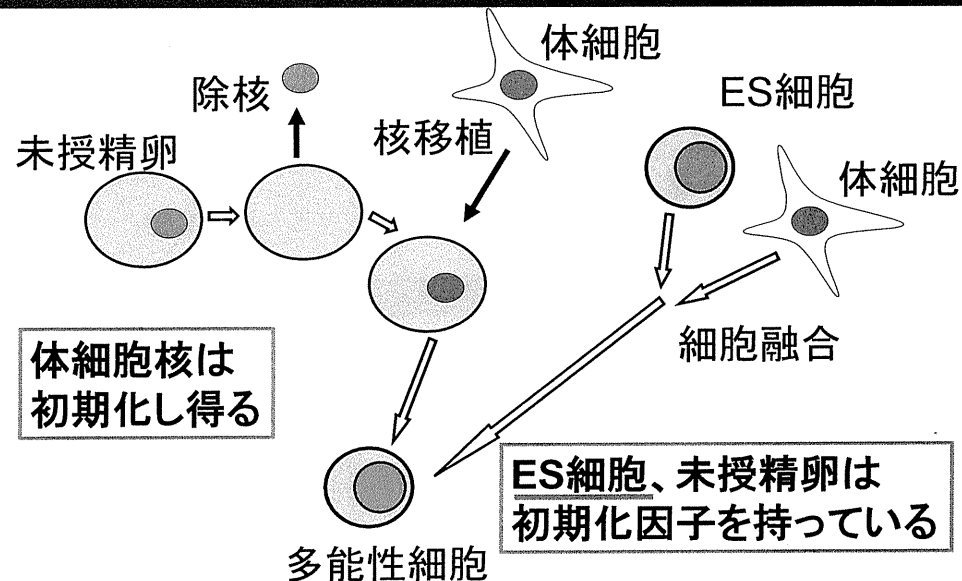
ドリー

## マウスiPS細胞



Takahashi and Yamanaka Cell 2006

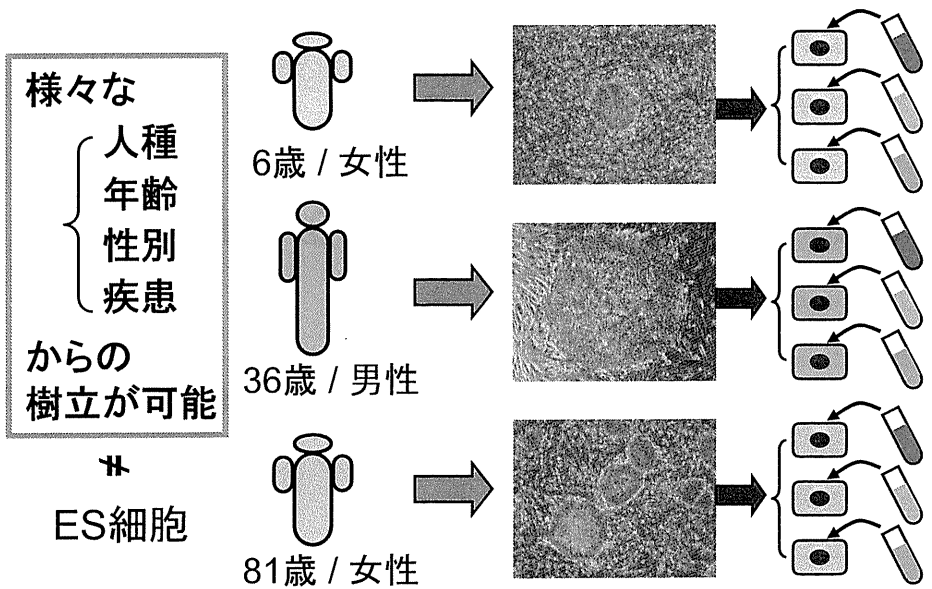
## 体細胞クローンと細胞融合



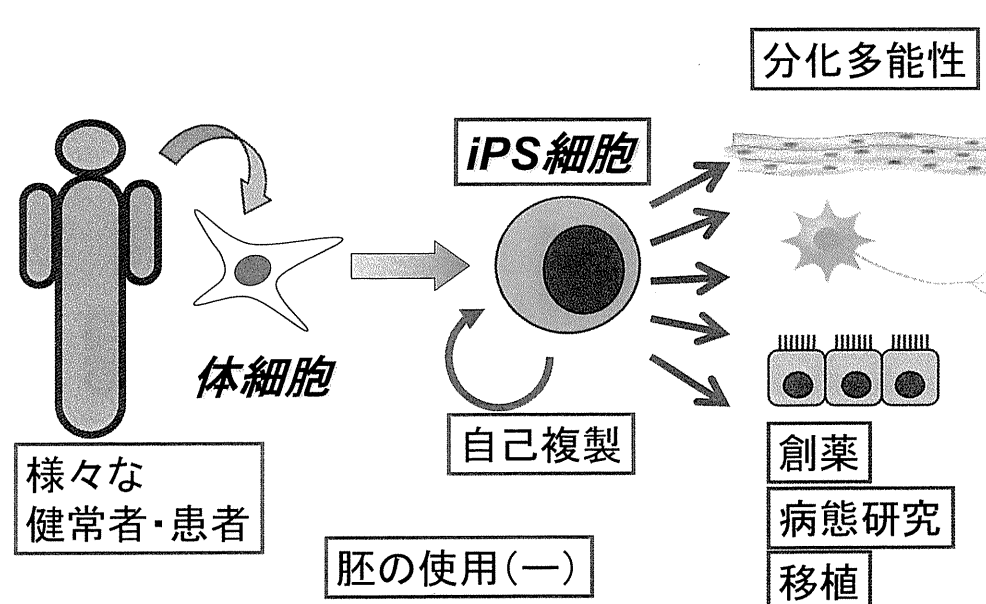




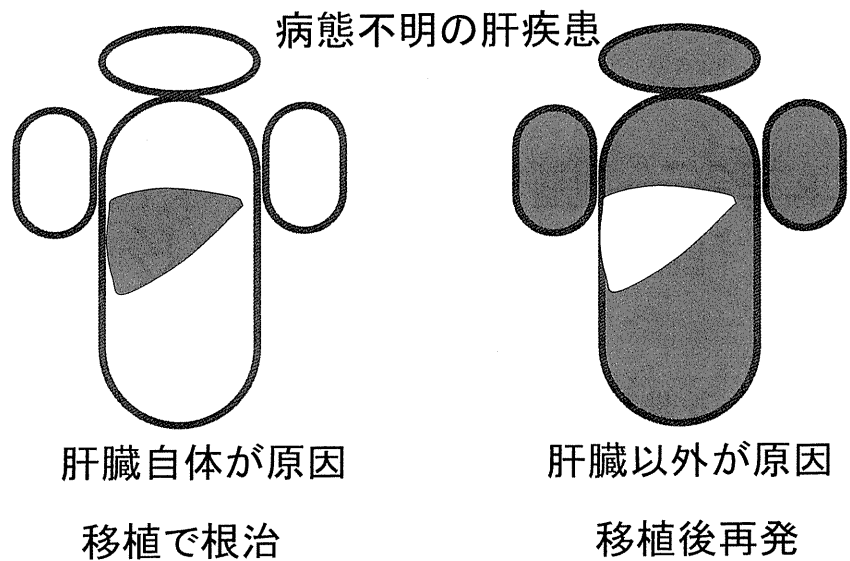
## ヒトiPS細胞を用いた患者特異的創薬モデル



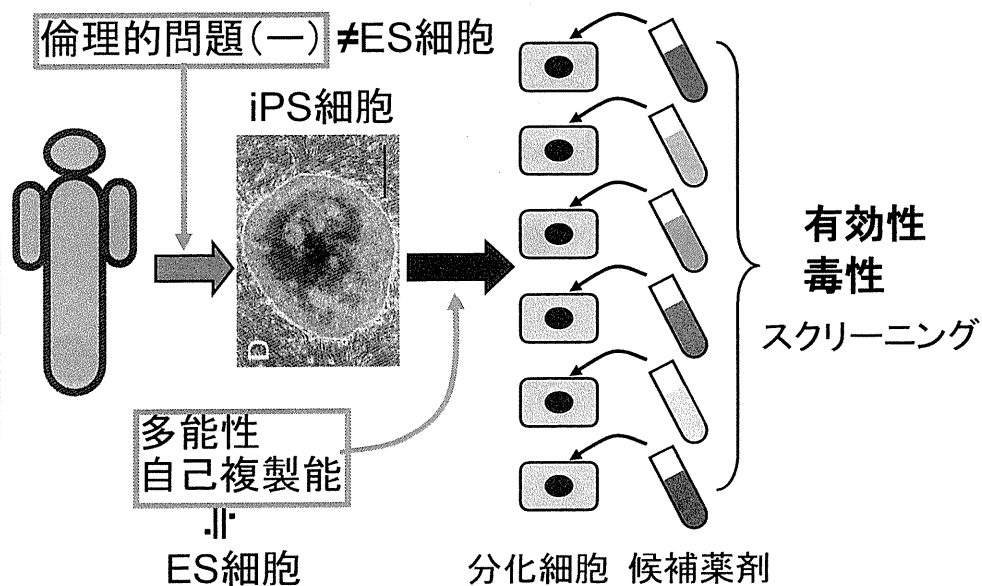
## iPS細胞 (人工多能性幹細胞)



## ヒトiPS細胞を用いた消化器病態研究モデル



## ヒトiPS細胞を用いた創薬モデル

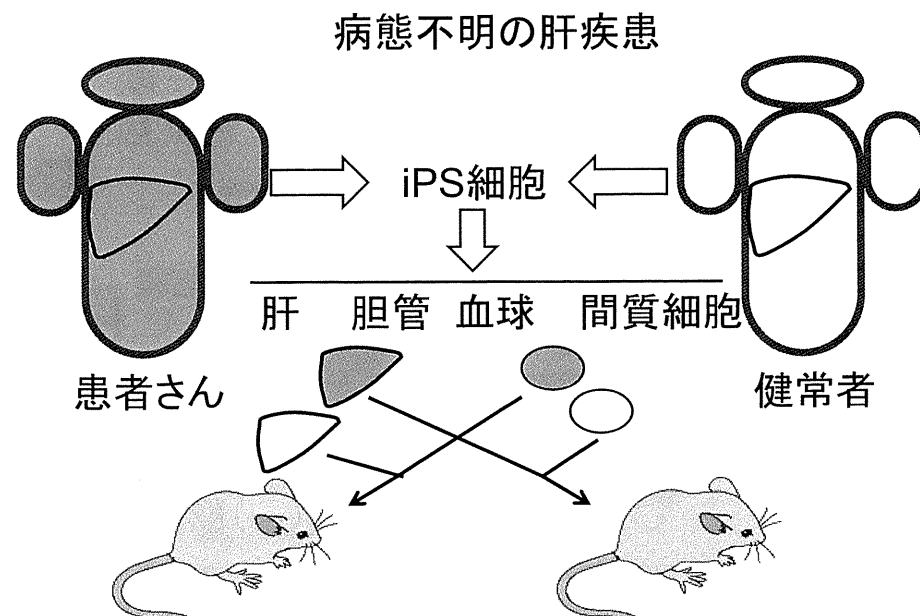


ここまでがiPS細胞の総論です。

分かりにくいところ、質問、  
コメントなどあれば、お願いいたします。

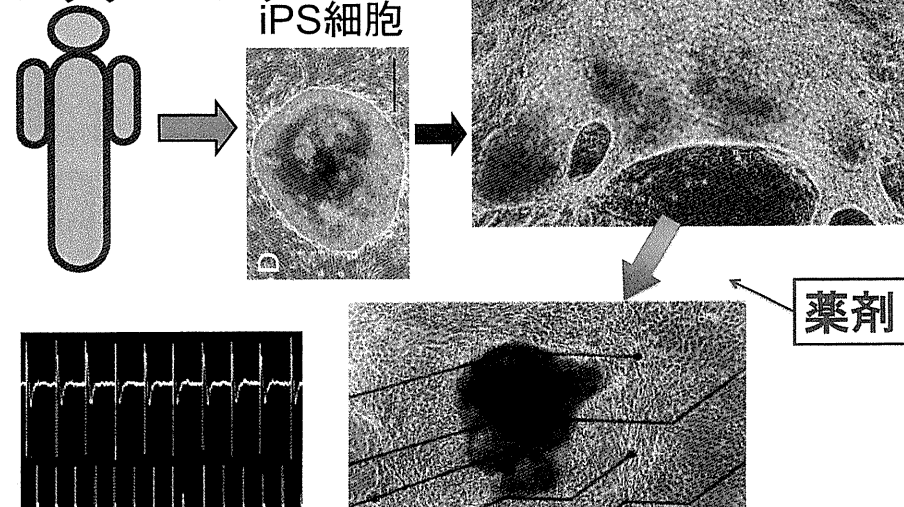
23

## ヒトiPS細胞を用いた消化器病態研究モデル



## ヒトiPS細胞を用いた患者特異的創薬モデル

QT延長症候群の  
スクリーニング



ところで、忘年会シーズンです。

幹事をされている方、おられますか？

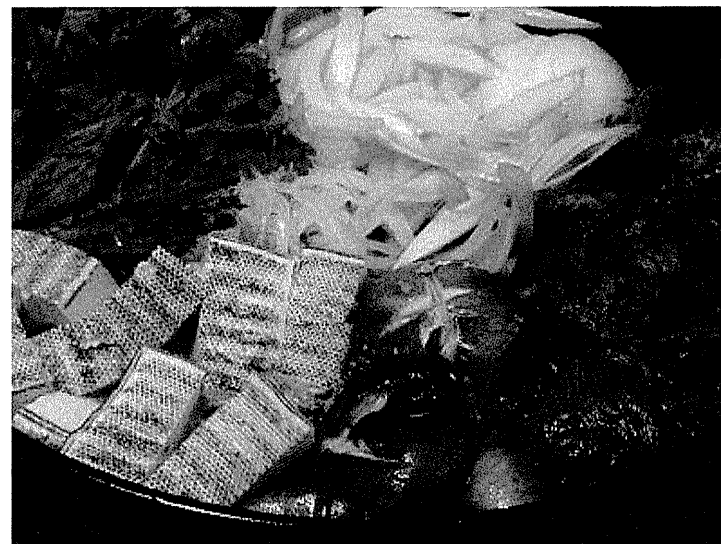
24

ここからはiPS細胞の質に関する話です。

キーワード：“標準化”

27

美味しいスキ焼を食べるには？



### なぜ“標準化”が必要か？

①様々なiPS細胞が、様々な場所で、様々な用途で、



iPS細胞の利点・存在意義

iPS cell

普通名詞

“標準化”が必要

Yamanaka

固有名詞

“標準化”不要

材料の種類

材料の産地

肉の等級

調味料の量

作り方

作った場所

材料の新鮮さ

作ってからの時間

評判

どこに載ってた？

誰が味見した？

店の名前(モリタ屋とか)

どんな状況で食べる？

(一次会？ 三次会？ 朝飯？)

## なぜ“標準化”が必要か？

①様々なiPS細胞が、様々な場所で、様々な用途で、

②iPS細胞は目的を達するための“原材料”の一つ

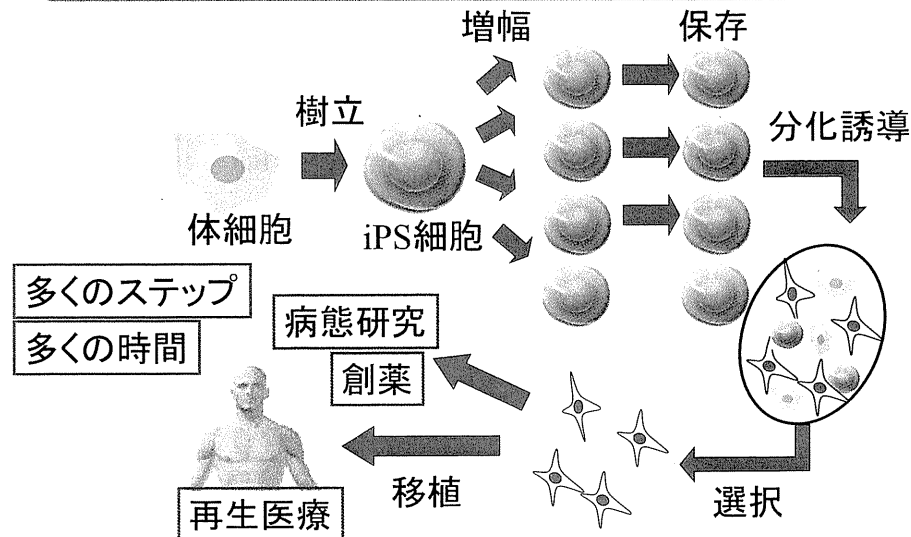
標準化なしには、  
あらゆる応用への展開が期待できない

“最適化”の追及は永遠に続く。

危険性や不安定性があっても、その程度が分かっている  
れば、使用できる。

## なぜ“標準化”が必要か？

②iPS細胞は目的を達するための“原材料”の一つ



## “標準化”の達成とは？

①“標準”は一点ではなく、ばらつきを含む“範囲”である。

誰が“標準的”な人？



## なぜ“標準化”が必要か？

②iPS細胞は目的を達するための“原材料”の一つ

