

NKT 細胞を用いた免疫細胞治療における免疫モニタリングに関する研究

研究分担者：中山 俊憲	千葉大学大学院医学研究院 免疫発生学	教授
研究協力者：加藤 美紀	千葉大学未来医療教育研究センター	特任研究員
三瀬 直子	千葉大学大学院医学薬学府	大学院生

研究要旨

α GalCer パルス樹状細胞の静脈内投与(Chiba-NKT)に関する第 相臨床研究を施行するために調製された、患者自己末梢血単核球由来 α Galactocylceramide (α GalCer)提示樹状細胞の表面上に発現する抗原分子の検討を行った。従来の樹状細胞マーカーとされる HLA-DR、CD11c、CD86 および単球マーカーである CD14 の発現率を検討したところ、各樹状細胞表面マーカーは症例間で発現率に差は認められたものの、各症例ともに各投与細胞間で比較的安定した発現を示すとともに、CD14 分子の発現低下を認めた。また、治療前後の患者末梢血 NKT 細胞、NK 細胞の増加率を算出したところ、それぞれ 31 例中 12 例および 18 例で有意な増加を認めた。さらに α GalCer 特異的インターフェロン 産生細胞能の検討を 29 例で行い、20 例で Chiba-NKT 後の産生細胞数の増加を検出した。これらの免疫パラメーターが主要評価項目である生存期間とどのように相関するか、今後の追跡調査の結果と合わせて引き続き検討を加える必要がある。

A. 研究目的

アフレーシスによって採取された末梢血より誘導し、NKT 細胞特異的リガンドである α Galactocylceramide (α GalCer)をパルスし提示させた樹状細胞は *in vivo* で NKT 細胞を認識し、活性化することが期待される。患者末梢血より誘導した樹状細胞について、表面抗原マーカーを中心とした質的評価を行い、免疫細胞療法における臨床効果との関係を検討する。また、この治療用免疫細胞である α GalCer パルス樹状細胞の作用機序として、体内で NKT

細胞を活性化することによって抗腫瘍効果に役割を果たすことに加えて、他の免疫細胞も活性化することが考えられていることから、細胞投与と臨床効果との因果関係を証明するには、*in vivo* における免疫反応を客観的に評価する必要がある。そこで治療期間中に採取した患者末梢血単核球を用いて *in vivo* での NKT 細胞特異的な免疫反応を解析した。

B. 研究方法

1) 投与細胞の免疫モニタリング

患者末梢血単核球より誘導した樹状細胞分画を含んだ培養細胞集団を用いることで、効率良く NKT 細胞を活性化できることはすでに示されており、樹状細胞の特徴となる基本的な表面抗原に関する発現検討がなされてきている。しかし培養細胞の発現する抗原分子の中で抗原提示細胞としての機能を適切に反映し、治療効果の予測が可能となりうるマーカーが存在しないことから、樹状細胞の代表的な表面抗原マーカーである HLA-DR、CD11c、CD86 の発現をフローサイトメトリー法にて検討した。さらに成分採血にて採取した直後の末梢血単球にて強い発現を認め、樹状細胞への分化誘導にて発現が著しく低下することが知られている CD14 分子の細胞表面発現割合の検討を行い、末梢血における免疫反応や臨床効果との関係を検討した。

2) 治療前後の末梢血単核球モニタリング

Chiba-NKT による生体内での反応を確認するため、末梢血単核球中における NKT 細胞数および NKT 細胞活性化にて 2 次的な活性化が期待される NK 細胞数について、フローサイトメトリー法にて検討した。NKT 細胞は CD3 陽性、V α 24 抗原受容体陽性、V β 11 抗原受容体陽性細胞と定義し、NK 細胞は CD3 陰性かつ CD56 陽性と定義した。さらに α GalCer が提示された樹状細胞によって刺激される細胞は主に V α 24⁺V β 11⁺ NKT 細胞であるが、

α GalCer 反応性のすべての細胞を測定するためのもう一つの方法として、 α GalCer-CD1d テトラマーを用いたフローサイトメトリー解析を一部の症例にて行い、CD3⁺ α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞数の検討を行った。末梢血リンパ球中の NKT 細胞、NK 細胞、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞の割合を測定し、血液学的検査で得られた全白血球数とリンパ球分画の割合を元に、各治療ポイントでの末梢血 1 mL あたりの NKT 細胞数、NK 細胞数、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞数を算出した。治療開始時の NKT 細胞数、NK 細胞数を基準として、治療介入後の NKT 細胞数、NK 細胞数の増加割合とその中での最大増加割合を求め、臨床効果との比較を行った。さらに凍結保存した末梢血単核球を用いて、*in vitro* で α GalCer によって再刺激した際の α GalCer 特異的インターフェロン (IFN- γ) 産生細胞数を、ELISPOT 法を用いて各症例ごとに同時に測定した。この assay 系における IFN- γ 産生細胞は、活性化した NKT 細胞のみならず、NKT 細胞の発揮する免疫増強効果によって活性化した NK 細胞の一部も寄与することが判明している。

(倫理面への配慮)

本研究は免疫モニタリングとして臨床研究に含まれる研究であり、臨床研究全体として千葉大学大学院医学研究院倫理審査委員会による承認を受けている。全

での被験者に対して文書による説明と同意を得ている。用いた検体は全て匿名化されており、個人情報の管理にも十分配慮をして研究を実施している。

C. 研究結果

1) 投与細胞の免疫モニタリング

成分採血にて得られた末梢血単核球より誘導し、治療に用いた投与細胞における表面抗原として、HLA-DR、CD11c、CD86 および CD14 分子の発現割合を検討すると、症例間で発現率に差は認められたものの、各症例ともに 4 回の投与細胞で比較的安定した発現を示した (表 1)。特に NKT 細胞と樹状細胞の相互作用に重要な補助シグナル分子である CD86 は各症例とも高い割合で発現を認めている。これまでに投与された培養細胞全体の各マーカーの平均発現率は、HLA-DR が 63.6%、CD11c が 24.2%、CD86 が 72.6%、CD14 は 2.3%であった。

2) 治療前後の末梢血単核球モニタリング

治療開始時と比較し、全コースを通じて NKT 細胞数が 1.5 倍以上の増加を認めたのは 31 例中 12 例であり、NK 細胞が 1.5 倍以上増加を認めたのは 18 例であった (表 2)。さらに各コース開始時点を基準として、NKT 細胞数の増減を解析してみると、1 コースまたは 2 コース開始時から増加を認めた症例は、31 例中 14 例であった。またこれまでに 16 例にて α GalCer-CD1d テトラマー

解析が実施された。 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞は $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT 細胞と同様の動態を示すが、 α GalCer に反応する細胞として $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT 細胞より幅広い細胞群を検出することから、Chiba-NKT によって $V\alpha 24+V\beta 11+$ NKT 細胞が 7 例の増加に留まったのに対して、 α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞は 14 例で増加を示すことが判明した。

機能解析のための末梢血単核球中の α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討を 29 例で行い、治療開始時と比較し 20 例で治療経過中に 2 倍以上の明らかな増加を認めた (表 2)。IFN- γ 産生細胞数が増加を認めた 20 例における腫瘍縮小効果は、partial response (PR) 1 名、stable disease (SD) 8 名、progressive disease (PD) 11 名である一方、増加を認めなかった症例における腫瘍縮小効果は PR 0 名、SD 5 名、PD 4 名であった。今後、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数と全生存期間との関連について、追跡調査によって全生存期間を確定させた後に検討を行う。

3) 樹状細胞上の表面抗原発現率と NKT 細胞特異的免疫反応の関連性の検討

α GalCer パルス樹状細胞の表面抗原発現と末梢血 NKT 細胞の増加の関係を検討するために、末梢血 NKT 細胞が開始時より増加した症例群 (症例 6, 8, 9, 12, 13, 20, 22, 23, 25, 26, 27, 30) とそれ以外の症例群における、樹状細胞

胞上の表面抗原発現率を比較してみると、HLA-DR 発現は増加群 63.8%、非増加群 64.1%、CD11c 発現は増加群 25.5%、非増加群 23.5%、CD86 発現は増加群 70.0%、非増加群 74.9%、CD14 発現は増加群 2.1%、非増加群 2.4%と顕著な差を認めなかった。

一方、樹状細胞の表面抗原発現が α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数に及ぼす影響を検討するために、IFN- γ 産生細胞増加群と非増加群における表面マーカーの発現割合を検討すると、HLA-DR 発現は増加群 67.6%、非増加群 54.5%、CD11c 発現割合は増加群 25.0%、非増加群 22.1%、CD86 発現割合は増加群 73.5%、非増加群 73.0%、CD14 発現割合は増加群 2.4%、非増加群 1.9%であり、IFN- γ 産生細胞増加群で HLA-DR の発現が高い傾向を認めしたが、その他に表面抗原発現に差は認められなかった。今後さらに症例を重ねて検討するとともに、主要評価項目である全生存期間のデータ確定を得てさらに検討を行う予定である。

D. 考察

α GalCer パルス樹状細胞のモニタリングとして、樹状細胞の代表的な表面マーカーである HLA-DR と CD11c、CD86 および単球マーカーの CD14 分子による評価を継続して行った。その結果、特に樹状細胞と NKT 細胞の相互作用に必要な補助シグナル分子であり、樹状細胞の成熟化や

NKT 細胞の活性化とサイトカイン産生に重要な働きをする CD86 分子がこれまで同様に安定して高発現していることが明らかとなった。また樹状細胞のもととなる単球で高発現する表面マーカー CD14 分子は低下もしくはほぼ消失しており、単球から樹状細胞への誘導は問題無くなされていると考えられた。また昨年度の解析にても抗原提示細胞における重要性が示唆された HLA-DR 分子の発現が、症例数を重ねて行った本年度の解析においても IFN- γ 産生細胞増加群において高い傾向を示したことは、本培養系における抗原提示細胞の機能発現に HLA-DR 分子が重要なマーカーとなる可能性を示唆しており、今後 35 例までの検討にて NKT 細胞活性化における HLA-DR 分子発現の意義とその役割を明らかにしていく。

治療前後での末梢血単核球を用いた NKT 細胞特異的免疫反応のモニタリングを施行することで、惹起することが期待されている Chiba-NKT 特異的な免疫反応を捉え、抗腫瘍効果における免疫学的作用機序解明が進むことが期待されている。さらには Chiba-NKT 特異的免疫反応と臨床効果との関係を証明することが可能となれば、臨床効果を反映するバイオマーカーとして利用することも期待出来る。今回免疫モニタリングとして、NKT 細胞、NK 細胞数の変化に加えて、 α GalCer-CD1d テトラマーを用いた α GalCer 反応性 T 細胞の検出を試みた。 α GalCer-CD1d テトラマーにて染色され

る細胞のほとんどは $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ invariant NKT 細胞であるが、T 細胞抗原受容体が $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ の組み合わせでない non-invariant T 細胞抗原受容体を発現する conventional T 細胞を含むことがこれまでに報告されている。しかしこの細胞の多寡や増減が腫瘍免疫において果たす役割や意義については明らかとなっておらず、Chiba-NKT 投与後の動態の意義についても不明である。今後更にデータを追加し検討を重ねることで、 $V\alpha 24^+V\beta 11^+$ NKT 細胞と α GalCer-CD1d テトラマー陽性細胞の免疫モニタリングとしての役割の違いを明らかにしていく。

さらに NKT 細胞の機能変化として、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討を行った。 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の検討が終了した 29 例中、20 例で 2 倍以上の IFN- γ 産生細胞数の増加を認め、臨床効果 PR の 1 例および SD の 8 例で、 α GalCer 反応性 IFN- γ 産生細胞数の増加を認めている。現時点では臨床効果との関連は明らかでは無いが、これまでの報告からは全生存期間との関連が最も重要となることから、今後の予後追跡調査から得られる全生存期間の確定を行って、免疫反応データとの関連を検討していく。またこれらの治療経過に沿って得られる免疫バイオマーカーに加えて、治療前に得られている免疫モニタリングのデータが、治療効果の予測を可能とするバイオマーカーとなりうるか、検討を進めていく予定である。

E. 結論

Chiba-NKT における α GalCer パルス樹状細胞の細胞表面抗原発現解析から、樹状細胞関連マーカーが細胞調製にて比較的安定した発現を示すことが明らかとなり、その中でも HLA-DR 発現の重要性が示唆された。また、 α GalCer パルス樹状細胞投与後に α GalCer 特異的 IFN- γ 産生細胞能の増強を認めた症例は全体の 69%であった。これまでの報告から、これらの症例では生存期間延長効果が得られる可能性があり、今後主要評価項目である生存期間の確定とともに更なる検討を加えていく。

F. 研究発表

1. 論文発表

1. Iinuma, T., Okamoto, Y., Yamamoto, H., Inamine-Sasaki, A., Ohki, Y., Sakurai, T., Funakoshi, U., Yonekura, S., Sakurai, D., Hirahara, K. and Nakayama, T. Interleukin-25 and mucosal T cells in noneosinophilic and eosinophilic chronic rhinosinusitis. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* in press.
2. Nakagomi, D., Suzuki, K., Meguro, K., Hosokawa, J., Tamachi, T., Takatori, H., Suto, A., Matsue, H., Ohara, O., Nakayama, T., Shimada, S. and Nakajima, H. Matrix metalloproteinase 12 is produced by M2 macrophages and plays important roles in the development of contact hypersensitivity. *J. Allergy. Clin. Immunol.* in press.
3. Endo, Y., Hirahara, K., Iinuma, T., Shinoda, K., Tumes, D. J., Asou, K. H., Matsugae, N., Obata-Ninomiya, K., Yamamoto, H., Motohashi, S., Oboki, K., Nakae, S., Saito, H., Okamoto, Y. and

- Nakayama, T. The Interleukin-33-p38 kinase axis confers memory T helper 2 cell pathogenicity in the airway. *Immunity* 42(2):294-308 (2015)
4. Mishima, Y., Wang, C., Miyagi, S., Saraya, A., Hosokawa, H., Mochizuki, K. M., Nakajima, T. Y., Koide, S., Negishi, M., Sashida, G., Naito, T., Ishikura, T., Onodera, A., Nakayama, T., Tenen, D. G., Yamaguchi, N., Koseki, H., Taniuchi, I. and Iwama, A. Histone acetylation mediated by Brd1 is crucial for *Cd8* gene activation during early thymocyte development. *Nat. Commun.* 5:5872 (2014)
 5. Tanaka, S., Suto, A., Iwamoto, T., Kashiwakuma, D., Kagami, S., Suzuki, K., Takatori, H., Tamachi, T., Hirose, K., Onodera, A., Suzuki, J., Ohara, O., Yamashita, M., Nakayama, T. and Nakajima, H. Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via ROR γ t induction as downstream targets of Stat3. *J. Exp. Med.* 211(9):1857-1874 (2014)
 6. Watanabe, Y., Onodera, A., Kanai, U., Ichikawa, T., Obata-Ninomiya, K., Wada, T., Kiuchi, M., Iwamura, C., Tumes, D. J., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K. and Nakayama, T. Trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 111 (35):12829-12834 (2014)
 7. Sakurai, T., Inamine, A., Inuma, T., Funakoshi, U., Yonekura, S., Sakurai, D., Hanazawa, T., Nakayama, T., Ishii, Y. and Okamoto, Y. Activation of invariant natural killer T cells in regional lymph nodes as new antigen-specific immunotherapy via induction of interleukin-21 and interferon- γ . *Clin. Exp. Immunol.* 178(1):65-74 (2014)
 8. Kuwahara, M., Suzuki, J., Tofukuji, S., Yamada, T., Kanoh, M., Matsumoto, A., Maruyama, S., Kometani, K., Kurosaki, T., Ohara, O., Nakayama, T. and Yamashita, M. The Menin-Bach2 axis is critical for regulating CD4 T-cell senescence and cytokine homeostasis. *Nat. Commun.* 5:3555 (2014)
 9. Suzuki, K., Nagao, T., Itabashi, M., Hamano, Y., Sugamata, R., Yamazaki, Y., Yumura, W., Tsukita, S., Wang, P. C., Nakayama, T. and Suzuki, K. A novel autoantibody against moesin in the serum of patients with MPO-ANCA-associated vasculitis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 29(6):1168-1177 (2014)
 10. Beaulieu, A. M., Zawislak, C. L., Nakayama, T. and Sun, J. C. The transcription factor Zbtb32 controls the proliferative burst of virus-specific natural killer cells responding to infection. *Nat. Immunol.* 15(6):546-553 (2014)
 11. Onodera, A., Tumes, D. J. and Nakayama, T. Epigenetic control of immune T cell memory. *Transcriptional and Epigenetic Mechanisms Regulating Normal and Aberrant Blood Cell Development* 367-382 (2014)
2. 学会発表
1. 中山 俊憲 Pathogenic Th2 細胞による慢性アレルギー性気道炎症制御 第16回京都アレルギークロストーク 2015年2月19日, 京都
 2. 中山 俊憲 眼からウロコの免疫による炎症病態制御 角膜カンファランス2015 共催セミナー 2015年2月12日, 高知
 3. 中山 俊憲 Pathogenic memory Th2 細胞とアレルギー性炎症制御 角膜カンファランス2015 2015年2月11-13日, 高知
 4. 中山 俊憲 免疫記憶研究と免疫システム統御治療学～研究者を目指す若手

- 医師へのメッセージ～Meet the Experts in Niigata 2015年1月22日, 新潟
5. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in airway inflammation. IMP Seminar, 12/18/2014, New York
 6. Watanabe, Y., Onodera, A., Ichikawa, T., Obata-Ninomiya, K., Wada, T., Kiuchi, M., Morimoto, Y., Shinoda, K., Yagi, R., Motohashi, S., Hirahara, K. and Nakayama, T. The trithorax complex component Menin controls differentiation and maintenance of T helper 17 cells. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 7. Tanaka, S., Suto, A., Iwamoto, T., Suzuki, K., Takatori, H., Tamachi, T., Hirose, K., Onodera, A., Suzuki, J., Ohara, O., Yamashita, M., Nakayama, T. and Nakajima, H. Sox5 and c-Maf cooperatively induce Th17 cell differentiation via ROR γ t induction as downstream targets of Stat3. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 8. Izumoto, M., Kuwahara, M., Kiyoi, T., Shinoda, K., Nakayama, T., Kurosaki, T. and Yamashita, M. Bach2-Blimp1 axis plays an important role in the regulation of allergic airway inflammation. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 9. Onodera, A. and Nakayama, T. Polycomb and Trithorax complexes control epigenetic memory of T helper cells. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 10. Yagi, R., Sarkar, H. M., Soh, T., Nakayama, T. and Zhu, J. IL-9 production is a transient feature of differentiating Th2 cells in response to TGF β . 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 11. Hosokawa, H., Shinoda, K., Suzuki, A., Ito, T. and Nakayama, T. Functionally distinct GATA3 complexes regulate Th2 cell differentiation and proliferation. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 12. Obata-Ninomiya, K., Nei, Y., Tsutsui, H., Ishiwata, K., Miyasaka, M., Matsumoto, K., Nakae, S., Kanuka, H., Inase, N., Nakayama, T. and Karasuyama, H. GATA-1 controls the generation and function of basophils. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 13. Hashimoto, K., Goto, S., Hatogai, Y., Sawai, R., Ohosawa, H. and Nakayama, T. Immunosenescence in B cell differentiation related to the expression Toll-like receptor gene. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 14. Hirahara, K., Wada, T., Nakayama, T. and O'Shea, J. J. Asymmetry of STAT action to define specificity and redundancy of IL-27 and IL-6 signals. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 15. Nagato, K., Motohashi, S., Nakayama, T., Yoshino, I. and Nishimura, I. M. Human melanoma antigen-specific iNKT cells engineered by the TIL 1383I T cell receptor gene transfer. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 16. Kunii, N., Makita, Y., Ihara, F., Uchida, R., Fujikawa, A., Sakurai, D., Motohashi, S., Nakayama, T. and Okamoto, Y. Antigen specific immunotherapy based on chimeric antigen receptor expressing T cells targeted to salivary gland tumor. 第43回日本免疫学会総会・学術集会 2014年12月10-12日, 京都
 17. Kimura, M., Hayashizaki, K., Singer, A. and Nakayama, T. Molecular basis for

- functional (helper versus cytotoxic) lineage fate decisions during thymocyte development. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
18. Tanno, H., Kanno, E., Suzuki, A., Takagi, N., Kamimatsuno, R., Ishii, K., Nakayama, T., Taniguchi, M. and Kawakami, K. Lack of NKT cells leads to persisted infiltration of neutrophils and delayed wound healing process in skin. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 19. Nakayama, T., Endo, Y., Tumes, J. D. and Hirahara, K. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. 第 43 回日本免疫学会総会・学術集会 2014 年 12 月 10-12 日, 京都
 20. 中山 俊憲 病原性記憶 Th2 細胞によるアレルギー性気道炎症制御 分子免疫学セミナー 2014 年 12 月 5 日, 徳島
 21. 中山 俊憲 NKT 細胞免疫系をターゲットにした肺癌と頭頸部がんの免疫細胞治療—これまでの臨床研究の成果と今後の展望— 第 27 回日本バイオセラピー学会学術集会総会 2014 年 12 月 4-5 日, 大阪
 22. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞の形成と維持機構 感染症研究グローバルネットワークフォーラム 2014 2014 年 11 月 15 日, 千葉
 23. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. Symposium of the International Leibniz Research Cluster ImmunoMemory, Organisation of Immunological Memory, 11/4-5/2014, Berlin
 24. Nakayama, T. Pathogenic memory Th2 cells in airway inflammation. The Fourth International Conference on Regulatory T Cells and T Helper Cell Subsets and Clinical Application in Human Diseases, 11/1-4/2014, Shanghai
 25. Nakayama, T. Effector T cell differentiation for allergic responses. Novo nordisk innovation summit 10/1-2/2014, Tokyo
 26. 長谷川 明洋, 荻野 英賢, 大津山 賢一郎, 中山 俊憲 アレルギー性炎症の誘導にともなうリンパ球浸潤に関与する分子の解析と細胞集積のイメージング 第 23 回日本バイオイメージング学会学術集会 2014 年 9 月 4-6 日, 大阪
 27. Nakayama, T., Endo, Y., Tumes, D. J. and Hirahara, K. Pathogenic memory Th2 cells in the airway. The 2nd Symposium of International Immunological Memory and Vaccine Forum (IIMVF). 8/25/2014, USA
 28. 中山 俊憲 NKT 細胞免疫系をターゲットにした肺癌と頭頸部癌の免疫細胞治療—10 年間の臨床研究の成果と今後の展望— 琉球大学大学院医学研究科(臨床研究)特別セミナー 2014 年 7 月 4 日, 沖縄
 29. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞と気道炎症制御 沖縄感染免疫シンポジウム 2014 2014 年 7 月 3 日, 沖縄
 30. Nakayama, T. Generation and maintenance of pathogenic memory Th2 cells. RIKEN IMS-JSI International Symposium on Immunology 2014, 6/26-27/2014, Yokohama
 31. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞と気道炎症制御 Advanced Seminar Series on Microbiology and Immunology 2014 年 6 月 18 日, 大阪
 32. 細川 裕之, 加藤 美紀, 中山 俊憲 Functionally distinct GATA3 complexes regulate Th2 cell differentiation and proliferation. 第 24 回 Kyoto T cell Conference 2014 年 5 月 16-17 日, 京都
 33. Tumes, J. D., Onodera, A., Hosokawa, H., Koseki, H., Suzuki, Y., Motohashi, S. and Nakayama, T. The polycomb protein Ezh2 regulates differentiation and plasticity of CD4 T helper type-1 and type-2 cells.

- 第 24 回 Kyoto T cell Conference 2014
年 5 月 16-17 日, 京都
34. Kimura, Y. M., Yagi, R., Nakayama, T.
and Singer, A. Strong TCR signaling
prolongs lineage uncertainly during
MHC-I specific positive selection. 第 24
回 Kyoto T cell Conference 2014 年 5 月
16-17 日, 京都
35. 飯沼 智久, 山本 陸三朗, 櫻井 利興,
船越 うらら, 米倉 修二, 櫻井 大樹,
中山 俊憲, 岡本 美孝 アレルギー性
鼻炎における pathogenic memory T 細胞
の検討 第 26 回日本アレルギー学会春
季臨床大会 2014 年 5 月 9-11 日, 京都
36. 中山 俊憲 Pathogenic 記憶 Th2 細胞に
よる慢性気道炎症制御 第 54 回日本
呼吸器学会学術講演会 2014 年 4 月
25-27 日, 大阪

G. 知的財産権の出願・登録情報

1. 特許取得

登録日：平成 27 年 1 月 9 日, 登録番号：
特許第 5674082 号, 出願日：平成 21 年 8
月 31 日, 「NKT 細胞リガンドをパルスし
た抗原提示細胞による抗腫瘍療法の有
効性の予測方法」, 発明者：本橋 新一郎
(国立大学法人千葉大学大学院医学研究
院), 中山 俊憲 (国立大学法人千葉大学
大学院医学研究院), 沖田 幸祐 (発明完
成時：千葉大学特別研究学生), 出願人：
国立大学法人千葉大学、高信化学株式会
社, 出願番号：特願 2009-200911 号

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1 投与細胞中の樹状細胞関連表面抗原発現割合

症例	HLA-DR	CD11c	CD86	CD14
1	50.4±13.2	33.2±15.9	70.0±6.4	2.2±2.0
2	49.1±7.7	29.2±9.4	81.7±12.1	0.7±0.4
3	21.9±12.7	44.1±13.9	65.6±19.3	1.0±0.6
4	46.8±10.7	32.4±9.1	72.7±15.5	2.4±1.0
5	42.5±19.3	7.7±2.1	90.2±5.7	1.0±0.2
6	64.7±17.6	28.6±9.3	88.2±11.0	1.6±0.9
7	69.7±1.7	12.5±3.8	77.1±9.8	0.6±0.1
8	66.8±13.3	36.3±13.9	69.2±19.9	0.8±0.1
9	59.4±9.7	15.0±8.2	66.6±3.2	0.6±0.2
10	81.9±7.0	12.7±4.5	82.9±6.3	1.1±0.9
11	80.4±9.5	22.8±4.0	79.0±17.3	0.7±0.3
12	84.9±4.9	15.2±4.6	86.0±7.4	1.0±0.9
13	84.7±4.6	12.4±2.3	80.7±10.2	1.1±0.2
14	91.9±3.9	28.9±8.2	90.8±7.2	1.0±0.5
15	51.1±10.8	27.9±7.1	66.3±15.7	3.3±2.5
16	85.9±5.7	15.3±4.2	87.0±6.4	1.3±0.4
17	73.8±15.2	41.2±14.3	66.7±27.7	5.4±2.1
18	86.0±10.5	14.1±2.5	79.5±13.7	6.6±4.7
19	95.1±3.2	9.6±3.8	90.4±5.6	4.8±0.9
20	93.4±2.6	33.1±3.4	83.8±6.8	4.8±2.6
21	44.6±5.3	29.9±0.9	33.1±14.5	5.8±3.9
22	74.2±11.0	42.0±9.3	77.1±21.3	2.8±1.3
23	58.5±3.8	24.8±5.8	51.7±26.4	4.2±2.2
24	21.1±16.1	26.0±8.6	52.3±24.9	3.6±3.1
25	62.5±11.1	20.1±3.4	51.1±20.1	1.8±1.0
26	24.7±5.1	24.2±8.1	51.6±26.1	1.5±0.7
27	47.7±7.9	29.9±13.3	74.1±17.8	1.6±0.3
28	90.3±4.2	18.0±2.9	89.7±4.8	1.6±0.8
29	50.9±10.9	21.9±9.3	50.8±25.6	2.4±0.4
30	38.0±9.4	28.5±12.0	54.7±22.7	2.9±0.6
31	84.5±6.1	19.3±1.9	81.4±8.4	2.7±0.9

表2 臨床効果およびNKT細胞特異的免疫反応

症例	臨床効果	NKT細胞数 増加	NK細胞数 増加	IFN- γ 産生細胞数増加
1	SD	1.0	1.1	2.3
2	PD	0.3	3.7	1.9
3	PR	1.4	3.0	5.9
4	SD	0.9	1.1	0.8
5	SD	0.3	1.2	1.5
6	SD	3.5	1.1	4.4
7	PD	1.0	2.2	6.5
8	PD	1.6	1.4	1.2
9	PD	3.5	1.5	4.6
10	PD	1.4	1.6	2.1
11	PD	0.4	1.2	1.7
12	SD	5.1	2.0	1.4
13	SD	4.0	2.1	1.8
14	PD	0.4	1.7	2.1
15	PD	0.4	1.8	5.2
16	PD	0.5	1.5	2.5
17	SD	1.0	1.7	2.6
18	PD	1.3	1.2	3.8
19	PD	0.4	2.7	5.1
20	SD	3.7	1.4	6.7
21	PD	0.5	1.0	1.4
22	PD	3.3	1.8	3.4
23	PD	2.1	1.3	2.2
24	SD	1.4	1.3	2.8
25	SD	7.5	1.7	1.9
26	SD	3.2	1.8	1.8
27	SD	1.6	0.7	2.6
28	SD	1.4	2.3	3.1
29	PD	0.3	1.3	4.1
30	PD	2.3	3.1	n.d.
31	PD	0.5	3.2	n.d.

SD: stable disease, PD: progressive disease, PR: partial response, n.d.: not done